Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr. med. Hans Herken

ÜBER DIE BEEINFLUSSUNG DER WUNDHEILUNGSVORGÄNGE DURCH EIN LIPOPOLYSACCHARID AUS PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Reimar Rudolph

aus Berlin

1970

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr. med. Hans Herken

ÜBER DIE BEEINFLUSSUNG DER WUNDHEILUNGSVORGÄNGE DURCH EIN LIPOPOLYSACCHARID AUS PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Reimar Rudolph

aus Berlin

Dekan : Professor Dr.med. Herbert L a x

Referent : Professor Dr.med. Diether N e u b e r t

Korreferent : Professor Dr.med. Hans H e r k e n

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am : 23.III.1970

Meinen Eltern in Dankbarkeit

I N H A L T

Einführung	S. 1
Literaturübersicht	S. 3
Material und Methoden	S. 15
Ergebnisse	S. 27
Diskussion	S. 70
Zusammenfassung	S. 78
Literaturverzeichnis	S. 80
(Danksagung	S. 97)
(Lebenslauf	S. 99)

-.-.-.-.-.-.-.-

INHALT

Einleitung S. 1
Literaturübersicht S. 3
Material und Methoden S. 15
Ergebnisse S. 27
Diskussion S. 70
Zusammenfassung S. 78
Literaturverzeichnis S. 80

(Danksagung S. 97)
(Lebenslauf S. 99)

E I N F Ü H R U N G

Zu den Substanzen , die beschleunigend auf den Prozeß der Wundheilung einwirken , müssen unter anderem auch bestimmte Wirkstoffe aus Bakterien gerechnet werden .

Bei tensiometrischen Versuchsreihen , die vor einiger Zeit in unserem Institut mit verschiedenen phenolextrahierten Mikroorganismen durchgeführt wurden , steigerte besonders eine der Fraktionen aus Pseudomonas aeruginosa die Reiß - festigkeit von Inzisionswunden an Ratten gegenüber den Kontrolltieren signifikant .

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht , die genannten Befunde an Wunden verschiedener Art zu reproduzieren . Dabei sollte der Wirkungsmechanismus der Substanz geklärt und die Verträglichkeit dieses bakteriellen Lipopolysaccharids geprüft werden .

Mit dem extrahierten Lipopolysaccharid wurden folgende Untersuchungen vorgenommen :

1) Reißfestigkeit von Inzisionswunden bei lokaler Applikation

2) Heilungsgeschwindigkeit von Exzisionswunden bei lokaler und parenteraler Applikation

3) Schwammgranulomtest :
   a) Feucht- und Trockengewicht von Granulom und Kapsel
   b) Reißfestigkeit des Granuloms
   c) Wundheilungsindex K
   d) Kollagengehalt
   e) Nukleinsäurengehalt
   f) Elektronenmikroskopische Untersuchung

4) Fibroblastenkultur :
   a) Mitoserate
   b) Kollagengehalt

5) Heilung der behandelten Exzisionswunden unter speziellen Bedingungen :
   a) Bei epinephrektomierten Tieren
   b) Bei Tieren mit Zweitwunden

6) Verteilungsstudien mit radioaktiv markiertem Lipopolysaccharid

7) Verträglichkeit :
   a) Toxizität
   b) Pyrogenität
   c) Antigenität

-.-.-.-.-.-.-

L I T E R A T U R Ü B E R S I C H T

Ablauf der Wundheilung

Bei den zahllosen morphologischen und biochemischen Untersuchungen zum Verlauf der Wundheilung scheint sich die grundsätzliche Unterteilung in Substrat- und Kollagenphase bewährt zu haben (1-15) . Hierbei ist die Substratphase , sie wird als Sonder = fall einer akuten Entzündung angesehen , mit ihren teils ab = räumenden , teils den Wiederaufbau vorbereitenden Leistungen besonders interessant .

Bei jeder Wunde , die über die Grenzen der Epidermis hinaus = greift , ist als unmittelbar erste Reaktion eine Hämorrhagie zu beobachten , gefolgt von einer ödematösen Schwellung des be = treffenden Gebietes . Der Gewebs-pH verschiebt sich zum sauren Bereich , es kommt zur sogenannten Grundsubstanzentmischung , in deren Verlauf die Fibrillen zerstört werden . Die Gewebs = trümmer werden von einwandernden Leukozyten , später auch Histio = zyten , phagozytiert oder enzymatisch aufgelöst . Die Zahl der "fenestellae" in der Kapillarwand erscheint vergrößert (26) , offenbar von permeabilitätsfördernden Substanzen wie Histamin , Bradykinin und Serotonin . Die gesteigerte Durchlässigkeit der Gefäßwände führt zur Exsudation ins Wundgebiet , die durch mangelhafte Vasokonstriktion und Abflußstörungen noch verstärkt wird . In diesem Exsudat werden proteolytische Fermente vom Typ des Plasmins aktiviert , die bestimmte Peptidstoffe (zB. das von MENKIN entdeckte Leukotaxin (19) , Nekrosin und Exudin) vor allem aus Mastzellen freisetzen und so den Entzündungs = prozeß unterhalten .

Am zweiten Tag ist im Wundgebiet bereits eine verstärkte Zell = teilung feststellbar , sowohl in der Epidermis als auch in der Kutis . Man erklärt das heute mit der Anwesenheit von "chalones" ,

gewebsspezifischen Substanzen , die als niedrigmolekulare Eiweißverbindungen identifiziert werden konnten und im un = verletzten Gewebe die Mitoserate der Zellen drosseln sollen (39) . Im traumatisierten Gebiet sinkt dann wohl vorüber = gehend die Konzentration dieser "chalones" und damit ihr hemmender Einfluß auf die Teilungsgeschwindigkeit .

Im Granulationsgewebe , das in intaktem Zustand die Wunde vor Infektion schützt , überwiegen drei Arten der Zell = aktivität : Resorption (Histiozyten) , Sekretion (Plasma = zellen) und Faserbildung (Fibroblasten) , ferner finden sich Angioblasten , die Kapillarsprossen bilden und damit dem Gewebe die typische feinkörnige Oberfläche geben , Granulozyten , Mastzellen und Lymphozyten . Die größte Be = deutung kommt hierbei zweifellos den Fibroblasten zu , die sozusagen die Zentralfiguren des gesamten Heilungsvorgangs darstellen . Es gilt heute als bewiesen , daß sie einerseits aus ortsansässigen Fibrozyten , die unter dem Einfluß des Traumas ihre Mitosefähigkeit zurückgewinnen , andererseits aus hämatogenen Monozyten hervorgehen (8,17) . Elektronen = optisch haben die Fibroblasten ein "Bipolares" Aussehen , tragen plumpe Fortsätze und verfügen über ein ausgeprägtes endoplasmatisches Retikulum mit aufsitzenden RNA - Granula (25) . Sie sind für die Bildung der Interzellularsubstanz , die aus Kollagenfibrillen und der mukopolysaccharidhaltigen Kittsubstanz besteht , zuständig . Das zum Aufbau der Muko = polysaccharide benötigte Material erhalten die Fibroblasten wahrscheinlich aus dem Blut , und zwar von hexosaminbeladenen alpha 2 - und beta-Globulinen , die schon kurz nach der Wund = setzung in stark erhöhter Konzentration auftreten . Die Aminozucker werden dann mit Glukuronsäure zu Hyaluronsäure und anderen schwefelfreien Mukopolysacchariden zusammenge = fügt (schwefelhaltige Glukosaminoglykane können allerdings auch direkt von den Fibroblasten gebildet werden) , wobei

die beta-Glukuronidase (27) , die aus den Lysosomen zerstörter Parenchymzellen freigesetzt worden ist , eine führende Rolle spielt . Es entstehen Stoffe vom Typ der Chondroitinschwefel = säure , die auf bislang unklare Weise in den Interzellular = raum gelangen und hier mit den Fibrillen die "Grundsubstanz" bilden sollen (10,18,31,32) .

An dieser Stelle muß darauf hingewiesen werden , daß sich die Leistungsfähigkeit der Fibroblasten nicht auf sekretorische Prozesse beschränkt , sondern auch akkumulierende Potenzen umfaßt ; beispielsweise können sie im Wundgebiet Thyroxin an = reichern . Noch interessanter erscheint aber die Möglichkeit , daß sie auch die Kortikoide konzentrieren und sie sich durch chemischen Umbau nutzbar machen können , indem etwa aus dem Kortison das anabol wirkende Hydroxyandrostendion wird (10) .

Am 4. - 5. Tag , wenn die wandernden Zellen allmählich zu einer stationären Form übergehen , erfolgt in den Fibroblasten eine "Induktion" der Kollagenprolinhydroxylase . In diesem Vorgang sehen MUSSINI et al. (44) eine chemisch faßbare Zäsur zwischen Substrat- und Kollagenphase . Die Synthese des Kollagens an den Fibroblastenpolysomen hat nach den derzeitigen Vorstellungen (16,20,22,24,29,34,36,40) folgenden Ablauf : Prolin wird in Gegenwart von ATP und Magnesiumionen unter Mitwirkung der Prolyl-t-RNA-Synthetase in Peptidketten eingefügt . Im ent = stehenden Protokollagen bewirkt die Prolinhydroxylase eine Um = wandlung des Prolins zum Hydroxyprolin . Als Kofaktoren wirken zweiwertige Eisenionen , Askorbinsäure und alpha-Ketoglutarat , außerdem benötigt die Reaktion atmosphärischen Sauerstoff . Je drei dieser hydroxylierten alpha-Ketten bilden unter Knüpfung von Wasserstoffbrücken ein Tropokollagenmolekül . Man kann elektronenoptisch nachweisen (25) , daß die monomeren Tropo = kollagenmoleküle sich zunächst außen um die Fibroblastenmembran gruppieren - ein Phänomen , das "Marginale Kondensation" ge =

nannt wird - , sich dann zu Filamenten und schließlich zu den Kollagenfibrillen zusammenschließen , die eine Dicke von ca 300 Å haben und eine charakteristische Querstreifung mit einer Periodenlänge von 200 Å aufweisen .

Mit der Einbettung der fertigen Fibrillen in das vorbereitete Kittsubstanzlager ist die Aufgabe des Granulationsgewebes weit = gehend erfüllt . Die Bedeckung der traumatisierten Oberfläche erfolgt durch die amöboide Wanderung von Epithelzellen auf einem Untergrund , der durch die proteolytische Wirkung des Plasmins gleitfähig gemacht worden ist . Schließlich wird der Prozeß der Remodellierung durch die Kontraktion der Wundränder ergänzt (16,45,46,75) , der Wassergehalt sinkt innerhalb von 30 Tagen um 4% ab (12) , der Sauerstoffdruck in der Wundflüssig = keit schwankt zwischen 5 und 28 mmHg (28) . Die Vaskularisierung des Wundgebietes erreicht ihr Maximum am 5.Tag und ist noch am 13.Tag um 50% höher als im intakten Gewebe (43) , während neu = gebildete Lymphgefäße frühestens nach elf Tagen nachzuweisen sind und erst jenseits der dritten Woche das gesamte Areal durchsetzt haben (38) . Das neugebildete Protein des Re = generationsgebiets kann nicht ohne Weiteres mit dem des normalen Gewebes gleichgesetzt werden , wie zB. Unterschiede in der Methionin- und Zystinkonzentration zeigen .

Wenn am 15. - 18. Tag die Kollagenphase ihr Ende findet , be = ginnt ein zeitlich kaum zu limitierender Abschnitt der Differenzierung , der sich äußerlich in einem Konsistenzver = lust der Narbe bemerkbar macht .

Im heutigen Bild vom Ablauf der Wundheilung findet sich kein Platz mehr für die sogenannte "lag"-Phase (5) zu Beginn , denn offensichtlich kann auch kurz nach der Gewebsalteration weder morphologisch noch chemisch von einer Inaktivität die Rede sein (13) . Auch die traditionelle Unterteilung in Heilungsverläufe

per primam bzw. secundam intentionem ist zum bloßen Formalismus geworden , da auch die "p.p."-Wunde Granulationsgewebe , freilich in geringer Menge , zu bilden pflegt (3,13) .

Modelle der Wundheilung

VILJANTO (3) schlägt eine Unterteilung in direkte und indirekte Methoden der Heilungsbeurteilung vor .

Unter die erstere Sparte fallen die Bestimmungen der Reißfestig = keit von Inzisionswunden und der Kontraktions- bzw. Epithelisa = tionsgeschwindigkeit von Exzisionswunden . Die Testung der Reiß = festigkeit ist schon im vorigen Jahrhundert durchgeführt worden , und sie ist offenbar auch heute noch die gebräuchlichste Methode . Meist wird der das Wundgebiet umgebende Hautstreifen entnommen und unter zunehmender Belastung durch Gewichtseinheiten , strömendes Wasser oder Quecksilber , die Zerreißgrenze des Reparationsgewebes bestimmt (3,16,62,74,76,77,84,85,92,106,107) . Es sind auch spezielle Tensiometer entwickelt worden , die eine in-vivo-Testung ermöglichen sollen , so die Apparaturen von SANDBLOM et al.(53, 55-59,67,68,81,105) und STRUCK et al.(70,91) . Solche Versuche lassen sich auch mathematisch durch den Wundheilungsindex K aus = drücken , den WILLIAMSON & FROMM (82) als den Quotienten aus Reiß = festigkeitszunahme und Zeiteinheit definiert haben .
Die Inzision selbst wird meist mit Skalpell oder Schere vorgenommen , das elektrische Messer soll eine breite Nekrosezone setzen und wird daher kaum verwendet (101) . Für die flächenhafte Traumatis = ierung zieht man der Brandwunde (79,99) die mechanische Exzision vor ; die abnehmende Größe des Wundareals kann dann auf Spezial = papier übertragen (37) und quantitativ bestimmt werden , sei es durch Gravimetrie (72) oder Planimetrie (86,95) . Diese Methodik hat übrigens als einzige eine bescheidene Bedeutung für die Klinik erlangt , etwa bei der Erfolgskontrolle einer Ulcus-cruris-Therapie .

BARON (47-52) hat ein besonderes Modell , die sogenannte "Ring = wunde" beschrieben , welche eine zentrale Hautinsel kreisförmig umgibt . Der Vorteil dieses Verfahrens soll darin bestehen , daß man aus der Flächenverkleinerung des Zentralstücks auf das Aus = maß der proteolytischen Vorgänge schließen kann .

Das Granulationsgewebe der Hautwunden ist morphologisch (25,101) und biochemisch (12,18,31,44,46,97,108) untersucht worden . Wegen der geringen Ausbeute ist man dann aber zum Modell der "inneren Wunde" übergegangen , indem man Fremdkörpergranulome er = zeugte . Als besonders zweckmäßig haben sich Kunststoffschwämm = chen erwiesen (3,36,54,64,73,90,93,94,102) , es werden sonst auch Agar-Würfel (100) , Talkum (103) , der Algenextrakt Carrageenin (44,69,83,89,96) oder , wie im "granuloma-pouch-test" , Luftin = jektionen in Verbindung mit Krotonöl (98) angewendet . Auch der Ring-Granulom-Test (60,61,98,104) , bei dem Metall- oder Plastik = ringe eine Wunde künstlich offenhalten , gehört in diese Gruppe . Mit den geschilderten Methoden kann man größere Mengen von Granulationsgewebe gewinnen und auf seinen Gehalt an Nukleinsäuren (3) , Kollagen (3,36,54,73) , Hexosamin (3) , Mukopoly = sacchariden (90) , Zystin und Methionin (82) untersuchen oder die von UDENFRIEND's Team entwickelte Bestimmung der Prolinhydroxylase (44,87,88) durchführen . VILJANTO (3) berichtet sogar über Reiß = festigkeitsmessungen an Granulomschwämmchen .

Schließlich sind einige weniger gebräuchliche Spezialmethoden be = schrieben worden ; es soll hier nur an die ausgedehnten Vas = kularisationsstudien von Arne WEIBER (43,71) mit radioaktivem Jod , an ODEN's Mikro-Lymphangiographien (38) und an Versuche zur Ver = teilung markierter Albumine in Brandwunden erinnert werden . Von den untersuchten in-vitro-Systemen ist vor allem die Fibro = blastenkultur erwähnenswert (32,63,66,80,166) .

Die Komplexität der Wundheilungsvorgänge macht verständlich , warum bislang keine der Methoden zur Verlaufsbeurteilung allgemeine

Anerkennung in der experimentellen Medizin - geschweige denn routinemäßige Anwendung im klinischen Alltag - finden konnte . Wenn man eine Aussage über die Wirkung eines Pharmakons auf die Wundheilung machen will , empfiehlt es sich also , möglichst mehrere der oben genannten Kriterien zu prüfen .

Beeinflussung der Wundheilung

Hierzu ist einleitend festzustellen , daß bei den gebräuchlichen Laboratoriumstieren kaum artspezifische Unterschiede in der Heilungszeit nachzuweisen sind (123) .

Von allen Substanzen , die die Wundheilung negativ beeinflussen , sind die Kortikoide am besten untersucht (30,42,60,61,96,97,112, 114,118-121,126,152,153,155-157) , ihre Hemmwirkung ist sowohl in Tierversuchen als auch an Fibroblastenkulturen nachgewiesen worden . Man hat dabei eine Wachstumsverzögerung der Fibroblasten beobachtet und in der Grundsubstanz einen verminderten Anteil der sauren Mukopolysaccharide festgestellt (30,114,120) ; im Granulom - gewebe sank die Aktivität der Aminopeptidase (97) , proteolytische Fermente bewirkten Kollagenverluste (126,157) , außerdem wurde die Histaminbildungsrate gesenkt (153) . Wichtiger als die Dosis scheint für diese Wirkungen der Zeitpunkt der Applikation zu sein , denn SANDBERG (152,153,155) hat nachgewiesen , daß Korti - son die Wundheilungsprozesse nur in den ersten Tagen nach dem Trauma beeinträchtigen kann . In weniger ausgeprägtem Maße gilt das auch für andere Antiphlogistika . Wie die Kortisonwirkung zu interpretieren ist , blieb bislang umstritten ; der Grund mag in einer Hemmung der Histaminfreisetzung während der frühen Entzünd - ungsphase zu suchen sein (152,153,155) . Vielleicht kommt aber der Stabilisierung lysosomaler Membranen die größere Bedeutung zu , denn damit wird ja die Freigabe entzündungsfördernder Säurehydro - lasen verhindert (42,118) . Eine andere Theorie schließlich be - zieht sich auf die unter Kortison verminderte Synthese von

Chondroitinsulfat und postuliert einen inhibitorischen Effekt auf das für die Bildung schwefelhaltiger Mukopolysaccharide verantwortliche ATP-Sulfurylase-System (118) .
Der iatrogen durch Substanzen wie beta-Aminoproprionitril und Aminoacetonitril erzeugte Zustand des Lathyrismus zeigt eindrucksvolle Störungen im Heilungsverlauf , wobei besonders die Reißfestigkeit vermindert ist (1,65,144,160) . Anscheinend kommt es hierbei im Kollagen zur Auflösung intramolekularer Vernetzungen und zur Beeinträchtigung der oxydativen Desaminierung . Ähnliches gilt auch für das Penicillamin (122,142) .
Heilungsverzögernd wirken ferner Vitamin E (11) , l-Thyroxin (11, 30) , Carrageenin (42) , Deuteriumoxyd (102) , Infiltrationsanästhetika wie Xylocain (78) , kationische Detergentien (105) , Hyaluronidase (161) , Heparin (95) , Streptokinase (168) und parenteral injiziertes Papain (113) .
Ionisierende Strahlen können den Heilungsablauf ganz erheblich verzögern (111) , ebenso Zustände von Hypothermie (135,136) , besonders in der Kombination mit Denervierung des Wundgebietes (137) , während interessanterweise die Denervation allein ohne Wirkung bleibt (53,139) .
Eine Hemmung der Bildung von Granulationsgewebe kann schon durch luftdichten Abschluß der alterierten Fläche erreicht werden (104, 134) , außerdem beobachtet man sie bei schweren Hämorrhagien (123, 154) und bei chronischen Leberschäden (138) .

Dann gibt es eine Reihe von Substanzen , die zwar die physiologische Reparation nicht beschleunigen , jedoch zu ihrem normalen Verlauf unentbehrlich sind . Hier ist vor allem das Vitamin C anzuführen , dessen Mangelsyndrome Skorbut bzw. Möller-Barlowsche Krankheit bekanntlich mit schweren Wundheilungsstörungen verbunden sind .
Diese Auswirkungen werden verständlich , wenn man an die entscheidende Mitwirkung der Askorbinsäure am Vorgang der Hydroxylierung peptidgebundenen Prolins im Rahmen des Kollagenaufbaus denkt (1,78,83,115,127,145,148,149,150,158,167) .
Zinkmangel inhibiert die Wundheilung über eine Hemmung der DNA -

und Proteinsynthese (1,106) , Kupfermangel soll zu lathyroiden Vernetzungsstörungen in der Kollagenstruktur führen (1) , und Eisenmangelzustände bzw. Applikation von Chelatbildnern mit Fe können einen für die Kollagensynthese spezifischen Hemmeffekt ausüben (1,131) .

In der positiven Beeinflussung der Wundheilungsvorgänge sind die Erfolge der experimentellen Medizin bislang weit weniger spektakulär .
Man hat festgestellt , daß ein Verband die Heilung mehr fördert als das Offenhalten der Wunde , wenn die Textilien genügend saug = fähig sind , - der sogenannte "Löschblatt-Effekt" (48,51) . Der Dauerverband soll zweckmäßiger sein als der Wechselverband (50) ; bei der Anwendung abdeckender Folien haben die Kühlfarben Violett und Bordeaux-Rot einen günstigen Einfluß (52) . Synthetisches Nahtmaterial ist dem Catgut vorzuziehen (117) , geklebte Wunden heilen schneller als unbehandelte (165) , und die Enthaarung des Operationsgebietes mit keratolytischen Salben soll gegen = über der mechanischen Rasur die Heilungsrate verbessern (110) . Auch erhöhte Umgebungstemperatur kann die Heilung beschleunigen (68) .
Mit verschiedenen Pharmaka hat man eine vorübergehende Stimulierung der Regenerationsprozesse erzielen können , so mit lokal ver = abreichtem Papain (42) , dem Triterpen-Glykosid "Asiaticoside" (151) , beta-Hydroxyäthylrutosid (107) , der Na-Cu-Chlorophyllin = verbindung "Septofyllin" (67) , dem Histamin-Liberator "compound 48/80" und dem Antibiotikum Polymyxin B (55) , Vitamin A-Azetat (42) , Dipyridamol (="Persantin") (129) , Digitonin und Aescin (42) . Merkwürdigerweise ist eine solche Wirkung auch bei Oxy = phenbutazon ("Tanderil") beobachtet worden , wenn es in der Initialphase gegeben wurde (116) . Lokale Anwendung von DNA kann den Vernarbungsprozeß erheblich beschleunigen , was mit parenteralen Gaben nicht zu erreichen ist (141) . Auch durch Gerben mit Formaldehyd und damit der Einführung von Amid- und Methylen -"cross-links" in die Kollagenmoleküle läßt sich die

Reißfestigkeit erheblich verbessern (16) . Von den Hormonen scheinen das STH (30,109,133) , die Östrogene (94,128) und die Androgene bzw. Anabolika (122,132,133) einen fördernden Einfluß zu haben , doch gibt es für die letztgenannte Gruppe auch gegen = teilige Befunde (147) .
Poröse Kunststoffe haben sich bei der Bedeckung flächenhafter Hautdefekte bewährt (125,143) . Am wenigsten umstritten sind aber die therapeutischen Erfolge mit lokal appliziertem Kollagen , das im Wundgebiet direkt in die Aufbauvorgänge miteinbezogen wird (91,124,130) . Bei genügend hoher Dosis sind Kochsalz = Knorpel-Extrakte auch auf parenteralem Wege wirksam (146,159) , die Gefahr der Immunisierung ist dabei gering einzuschätzen (162) .

Daß auch Bakterien einen positiven Effekt auf die Wundheilungs = vorgänge ausüben können , ist spätestens seit den Versuchen von LEVENSON und TENNANT 1963 als bewiesen anzusehen (92) . Im Ver = gleich zwischen keimfrei aufgezogenen und gewöhnlichen Meerschwein = chen zeigten die Inzisionswunden und Schwammimplantate bei den Tieren mit normaler Bakterienbesiedlung deutlich bessere Reiß = festigkeit und höheren Kollagengehalt . Es liegen aber auch Arbeiten vor , die eine direkte Benandlung mit bakteriellen Substanzen beschreiben . GREENE (79) behandelte Katzen nach der Wundsetzung mit intravenösen Gaben des Pseudomonas-Extraktes "Pyromen" in unterschiedlichen Dosierungen während eines Zeitraums von etwa neunzig Tagen . Die Heilung soll bei den behandelten Katzen 15-25 Tage früher als bei den Kontrolltieren erfolgt sein . MEIER , DESAULLES und SCHÄR (100) stellten bei lokaler Anwendung von Polysacchariden aus Proteus und Serratia marcescens eine ein = deutige Wachstumsförderung von Bindegewebsgranulomen fest . FREIHOFFER et al. (74) untersuchten die Wirkung von Escherichia-coli-Endotoxinen auf Granulationsgewebe und Reißfestigkeit bei lokaler und parenteraler Applikation . Sie stellten eine über = raschende Diskrepanz zwischen der signifikanten Zunahme des Kol = lagens in den behandelten Granulomen und der unveränderten Reiß =

festigkeit behandelter Inzisionswunden fest .

In unserem Institut sind von NEUBERT , WEDELL und KROWKE (140, 196) zahlreiche Versuchsreihen mit hitzesterilisierten Suspensionen von Staphylokokken , Streptokokken , Escherichia coli und Pseudo = monas aeruginosa durchgeführt worden . Dabei zeigten die gram = positiven Bakterien die erwartete Beeinträchtigung der Reiß = festigkeit , während Coli , besonders aber Pseudomonas diese nach sieben Tagen bereits eindeutig gesteigert hatten . Es wurden dann Lipopolysaccharide aus 12 Stämmen der Pseudomonasgruppe nach dem von WESTPHAL , LÜDERITZ und BISTER (163) angegebenen Verfahren isoliert . Das Prinzip dieser Methode besteht darin , daß nach einer Extraktion mit Phenol und Wasser bei 5° bzw. 65° C der Proteinanteil in der Phenolphase verbleibt , während die biologisch aktiven Lipopolysaccharide (= LPP) im wäßrigen Über = stand suspendiert sind (164) . Die Charakterisierung der ein = zelnen LPP-Fraktionen erfolgte durch Bestimmung des Phosphor = gehalts , gemessen nach der Veraschung . Dieser Phosphor dürfte aller Wahrscheinlichkeit nach aus dem Lipoidanteil des LPP - Komplexes stammen . Die Inzisionswunden wurden dann mit 200 µg/ 200 g Körpergewicht behandelt , die Defekte geklammert und nach Ablauf von 14 Tagen dem tensiometrischen Test unterworfen . Die Ergebnisse sind der Tabelle 1 zu entnehmen .

Die Resultate widersprachen den Erwartungen in mehrfacher Hinsicht . Obwohl man annehmen sollte , daß sich so eng verwandte Bakterien = stämme auch biologisch ähnlich verhalten , haben in dem beschriebenen Versuch drei Fraktionen die Narbenfestigkeit gesteigert , zwei sie verschlechtert und der Rest sie unbeeinflußt gelassen . Am verblüffendsten aber war die Tatsache , daß sich sogar die 5°- bzw. 65°-Fraktionen aus einunderselben Bakteriensuspension in ihrer Wirksamkeit unterschieden .

Tabelle 1

	Pseudomonas-Stamm	Extr. bei °C	% P/ Tr.gew.	Tierzahl	Reißfest. (M ± σ)	p gegenüber Kontr.
!	14885 b	5	6,7	15	1370 ± 218	0,0002
		65	2,3	13	1006 ± 170	
	14502	5	3,7	12	1125 ± 100	
		65	4,7	14	1000 ± 199	
	14213	5	1,0	13	1118 ± 143	
		65	0,9	13	1053 ± 146	
	14210	5	1,6	15	1208 ± 153	0,005
		65	1,8	13	940 ± 334	
!!!	14885 a	5	4,5	14	1050 ± 256	
		65	2,9	12	1500 ± 139	◄ 0,0002
	14210 a	5	1,6	14	1095 ± 148	
		65	0,6	14	1040 ± 177	
	10145 b	5	0,6	13	1190 ± 245	
		65	0,7	13	1135 ± 212	
	15152	5	1,9	14	1130 ± 284	
		65	0,2	14	1050 ± 158	
	10145 a	5	2,0	13	1030 ± 221	
		65	1,9	14	1080 ± 211	
	7700	5	1,1	15	860 ± 96	neg. sign.
		65	0,5	13	1070 ± 165	
	14886	5	2,2	13	975 ± 185	
		65	-	-	-	
	14504	5	1,3	15	905 ± 150	neg. sign.
		65	1,5	12	1085 ± 249	
	Kontrollen	-	-	40	1060 ± 196	

Als effektvollste Fraktion hatte sich die 65°- Charge des Stammes 14885 a erwiesen . Mit ihr sind die folgenden Versuchsreihen durchgeführt worden .

M A T E R I A L U N D M E T H O D E N

Phenolextraktion nach WESTPHAL , LÜDERITZ und BISTER (163)

Die hitzesterilisierten Kulturen des Stammes 14885 a von Pseudo - monas aeruginosa stellte uns die Firma Dr. Kade , Berlin, zur Verfügung .
100 ml Bakteriensuspension (ca 50 Milliarden Keime/ml) und 100 ml 90 %iges Phenol wurden im Wasserbad auf 65° C erhitzt , bei erreichter Temperatur zusammengegossen und unter Schwenken 25 min bei dieser Höhe gehalten . Anschließend wurde das Gefäß 10 min in Eiswasser gekühlt .
Weitere 100 ml der ursprünglichen Bakteriensuspension sowie 100 ml 75 %iges Phenol wurden auf 5° C abgekühlt und unter regelmäßigem Umrühren 30 min extrahiert .
Die breiartigen Flüssigkeiten aus beiden Extraktionen wurden an - schließend in der Kälte bei 5000 rpm zentrifugiert . Dann wurde , ebenfalls in der Kälte , die wässerige Phase mit der Ballonpipette sorgfältig abgehoben . Das zähflüssige Sediment wurde einer noch - maligen Extraktion unterzogen , um die Ausbeute an Lipopolysacchar - iden möglichst hoch zu gestalten .
Der pherolfreie , opaleszierende Überstand wurde dann in der Kälte je zwei Tage gegen fließendes Wasser und Aqua dest. dialysiert .

Danach erfolgte eine nochmalige Zentrifugation bei 5000 rpm 15 min lang . Dieser gereinigte Überstand wurde mit gesättigter alkoholischer Natriumazetatlösung in 6 Vol. Äthanol absol. gegeben und solange stehen gelassen , bis die LPP in weißlichen Flocken ausfielen . Sie wurden abzentrifugiert und je einmal mit Äthanol und Äther gewaschen , dann in Aqua dest. aufgenommen und 60 min bei 40000 rpm zentrifugiert . Das Sediment enthielt jetzt die reinen LPP , die im Vakuum-Exsikkator getrocknet wurden .
Die Ausbeute beträgt etwa 1 % des Trockengewichts der Bakterien-suspension . Die bräunlich gefärbten LPP kann man offenbar monatelang in einem Vakuumgefäß aufbewahren , ohne ihre biologische Wirksamkeit zu beeinträchtigen .
Im Überstand des letzten Zentrifugates sind Nukleinsäuren enthalten , die mit 2 Vol. Äthanol und einem Tropfen Ammoniumazetatlösung gefällt werden konnten . Dann erfolgt wieder eine Zentrifugation bei 40000 rpm 60 min lang , das Sediment wird gleichfalls im Vakuum-Exsikkator getrocknet .

Signifikanzberechnung

Die statistische Auswertung der Versuchsreihen erfolgte nach dem Prinzip des t-Tests und wurde mit einer elektronischen Rechenmaschine des Type WANG 370 durchgeführt .

1) Reißfestigkeit von Inzisionswunden

a) 24 weibl. Wistarratten (ca 150 g) im Versuch

Den Tieren wurde in Evipannarkose ein 5 cm langer Schnitt durch die Rückenhaut beigebracht , in die Wunden wurden bei 12 Kontrolltieren 0,3 ml phys. Kochsalzlösung geträufelt . Den 12 anderen Tieren wurden 600 µg LPP , suspendiert in 0,3 ml phys. Kochsalzlösg. , ins Wundgebiet appliziert . Die Wundränder wurden mit einer definierten Zahl von Klammern zusammengehalten . Am 14.Tag wurden die Tiere durch Dekapitation getötet , ein 2,5 x 3 cm großes Stück aus dem Narben-

areal entnommen und subkutanes Fett- und Bindegewebe ab = präpariert . Die Hautproben wurden zwischen zwei Haken ein = gespannt , deren unterer mit einer Plastikflasche verbunden war , in die ein gleichmäßiger Wasserstrom floß . Im Augen = blick des Völligen Durchreißens wurde der Zufluß gestoppt und die gefüllte Flasche gewogen .

b) Wirkungsvergleich verschiedener Extraktionsformen und Dosierungen gegenüber Kontrollen und mit α - Hexachlor = cyclohexan (HCH) behandelten Tieren .
142 weibl. Wistarratten (150-220 g) im Versuch .
Das HCH wurde über Nacht in Oleum rapae gelöst und am Tag nach der Operation per Schlundsonde verfüttert .
Operation wie oben , Behandlung :
13 Tiere bekamen 0,2 ml phys. NaCl-Lösg.
17 " " 200 µg 65°-LPP/0,2 ml phys.NaCl
15 " " 400 µg 65°-LPP/0,2 ml " "
13 " " 400 µg 5°-LPP/0,2 ml " "
13 " " 400 µg 65°-LPP/0,2 ml " "
und 200 mg HCH/kg Körpergewicht p.o.
14 " 200 mg HCH/kg " "
14 " 2 ml Rapsöl p.o.
Am folgenden Tag wurden an den restlichen Tieren , die etwas schwerer waren als die der ersten Gruppe , die Nukleinsäurefraktionen beider Extraktionen getestet .
15 Tiere bekamen 0,2 ml 65°-"RNA"-Lösg.
13 Tiere " 0,2 ml 5°-"RNA"-Lösg.
15 Tiere " 0,2 ml phys.NaCl-Lösg.

2) <u>Heilungsgeschwindigkeit von Exzisionswunden</u>
a) Lokale Applikation bei Meerschweinchen
19 weibl. Meerschweinchen (380-420 g) im Versuch

Den Tieren wurden in Äthernarkose im Nackenbereich je zwei Stanzwunden mit einem Korkbohrer von 11 mm Ø beigebracht .
Nach der Blutstillung wurde in eine der Wunden 200 g LPP/0,2 ml

phys. Kochsalzlösg. getropft , in die andere 0,2 ml NaCl . Anschließend wurden die Wunden für einen Tag mit Parafilm und Leukoplast abgedichtet . Der Heilungsverlauf wurde bis zum Abfallen des letzten Schorfes mittels Durchpausen auf Pergamentpapier kontrolliert und später der Unterschied gravimetrisch bestimmt , nachdem die Umrisse der Wunden auf Schreibmaschinenpapier übertragen und ausgeschnitten worden waren . Es wurden dann die Mittelwerte für jeden Tag be = rechnet .

b) Lokale Applikation verschiedener Dosen bei Ratten beiderlei Geschlechts .
Je 30 männl. und weibl. Ratten (150-190 g) im Versuch .
OP-Prinzip wie oben , jedoch wurde ein Bohrer mit kleinerem ⌀ (9 mm) verwendet und die Wunden unbedeckt gelassen .
Je 10 männl. und weibl. Tiere bekamen in eine Wunde 200 µg , 400 µg bzw. 800 µg , jeweils in 0,1 ml phys. NaCl . Die Kontrollwunden wurden mit 0,1 ml Kochsalzlösg. befeuchtet .

c) Intravenöse Gabe bei Ratten mit kranialen und kaudalen Wunden .
15 weibl. Ratten (ca 180 g) im Versuch .
Die Tiere bekamen je eine 9mm-Stanzwunde in den Nackenbe = reich und die Zone des Schwanzansatzes . 4 Tiere erhielten am 1. und 3. Tag eine Injektion von 5 µg LPP/1 ml NaCl in die Schwanzvene , 4 Tiere bekamen 2 x 10 µg und 3 weitere 2 x 20 µg . Die restlichen 4 Ratten erhielten Kontroll = injektionen von phys.NaCl-Lösg. Statistisch verglichen wurden sowohl die behandelten als auch die unbehandelten Wunden im kranialen und kaudalen Bereich .

d) Intraperitoneale Mehrfachgabe bei Ratten .
20 weibl. Ratten (150-180 g) im Versuch .
OP wie unter 2b) . 11 Tiere bekamen an 12 Tagen je eine Injektion von 100 µg LPP/1 ml phys.NaCl , die 9 Kontroll = tiere entsprechende Kochsalzinjektionen i.p.

3) Schwammgranulomtest

a) & b) Bestimmung von Feuchtgewicht , Trockengewicht und Reißfestigkeit .

aa) Feuchtgewicht des Gesamtgranuloms am 14. Tag
24 weibl. Ratten (220-250 g) im Versuch .
Den Tieren wurde in Äthernarkose ein Schnitt durch die Rückenhaut beigebracht ; in die entstehende Wundtasche wurden Schwämmchen aus synthetischem Schaumstoff mit einem Trockengewicht von 0,030 - 0,036 g implantiert . Bei 12 Tieren wurde der Schwamm mit 0,2 ml LPP-Suspensi - on (= 200 g) getränkt, bei den anderen 12 Tieren mit phys.NaCl-Lösg. , anschließend wurden die Wunden zuge - klammert . Nach 14 Tagen wurden die Ratten getötet und die entstandenen Granulome herauspräpariert und gewogen .

bb) Feuchtgewicht von Granulomen nach LPP bzw. HCH am 10.Tag
37 weibl. Ratten (190-230 g) im Versuch .
Methode wie unter aa) , 11 Kontrollen , 12 Tiere mit LPP (200 µg/0,2 ml) und zusätzlich 14 Tiere mit Kon - trollschwämmchen nach peroraler Gabe von 200 mg/kg HCH .

cc) Feuchtgewicht nach zwei verschiedenen LPP-Dosen .
37 weibl. Ratten (150-180 g) im Versuch .
OP wie oben . 12 Kontrollen , 12 Tiere mit 200 µg/0,2 ml und 13 Tiere mit 400 µg/0,2 ml . Die Präparations - methode wurde insofern geändert , als jetzt die Kapsel des Granuloms eröffnet und das Exsudat abgetupft wurde . Es war nämlich vorher nicht immer gelungen , das Granu - lom unbeschädigt zu entnehmen , sodaß durch Exsudatab - fluß Ungenauigkeiten auftraten .

dd) Langzeitversuch mit Schwammimplantaten .
136 weibl. Ratten (130-150 g) im Versuch ,
OP wie oben . Am 1. und 3. Tag post implantationem

wurden je 8 Schwämmchen nach LPP-Imprägnation (400 µg/0,2 ml) und Kontrollschwämmchen entnommen , am 5., 7., 10., 12., 14., 16., 19. und 21. Tag jeweils 6 . Die restlichen Tiere wurden nach 2 Monaten untersucht .
Das Feuchtgewicht wurde wie unter cc) bestimmt ; die Testung der Reißfestigkeit erfolgte mit derselben Apparatur wie unter 1a & b) , indem der Schwamm (ohne Kapsel) zwischen die Klammern eingespannt und belastet wurde . Die Trockengewichtsbestimmung richtete sich nach dem von KELLY (93) beschriebenen Prinzip : Die Granulome wurden mechanisch zerkleinert und 3 Tage in absolutem Alkohol aufbewahrt , dann 2 h mit Äther behandelt und anschließend 5 h lang bei 100° C getrocknet .

ee) Vergleichender Granulomtest mit Talkumpuder und verschiedenen LPP-Dosen .
55 weibl. Ratten (180-200g) im Versuch .
Methode wie üblich ; 12 Tiere erhielten je zwei Schwämmchen mit 400 µg Talkumpuder/0,2 ml phys.NaCl pro Schwamm , 11 Tiere 400 µg LPP/0,2 ml , 11 Tiere 800 µg LPP , 9 Tiere 1600 µg LPP und 12 Tiere als Kontrollen 0,2 ml Kochsalzlösg. Nach 10 Tagen Entnahme und Feuchtgewichtsbestimmung . Ein Teil der Schwämmchen wurde dann für biochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen weiterverarbeitet , der Rest einer Trockengewichtsbestimmung unterzogen .

c) Wundheilungsindex K
Nach WILLIAMSON & FROMM (82) ist

$$K = \frac{T2 - T1}{t2 - t1}$$

wobei T1 und T2 die Reißfestigkeitswerte zur Zeit t1 bzw. t2 sind . Zur Berechnung wurden die Ergebnisse von 3 b dd) herangezogen .

d) Kollagengehalt

Die Schwämmchen aus 3 b ee) wurden in einem Glashomo - genisator zerkleinert , das Homogenat mit Aqua dest. auf 10 ml aufgefüllt und durchgemischt . 8 ml wurden für die Nukleinsäurenextraktion benötigt , in den verbleibenden 2 ml wurde der Kollagengehalt durch Hydroxyprolinbestim - mung nach STEGEMANN & STALDER (169) festgestellt .

e) Nukleinsäurengehalt

Die 8 ml-Proben wurden nach der von SCHMIDT & THANNHAUSER (170) angegebenen Methodik extrahiert . RNA wurde mit der gebräuchlichen Orcin-Methode bestimmt , DNA nach BURTON (171) mit Diphenylamin .

f) Elektronenoptische Untersuchung

Je 2 Kontroll- und LPP-Schwämmchen vom 10.Tag aus 3 b ee) wurden in einer 3%igen Glutaraldehydlösg. (0,1 M Phos - phatpuffer bei pH 7,2) fixiert , in Pufferlösg. gewaschen und erneut nachfixiert mit einer 1%igen OsO_4-Lösg . in Phosphatpuffer , danach in der Azetonreihe entwässert und in Micropal eingebettet . Die Schnitte wurden mit LKB- und REICHERT'- Mikrotomen in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof.Dr. H.-J. MEHKER (II. Anat.Inst.) angefertigt , die Kontrastierung erfolgte mit Uranylazetat und Bleizitrat . Für die Aufnahmen wurden die SIEMENS-Geräte Elmiskope I und Ia verwendet . Zur besseren Orientierung wurden vor - her Semi-Dickschnitte hergestellt (ca 1 μ dick) , in 5%iger wässriger Giemsa-Lösg. mit Borax - Zusatz gefärbt und lichtmikroskopisch betrachtet .

4) Fibroblastenkultur

(Auch diese Untersuchungen wurden in Zusammenarbeit mit dem II. Anat.Inst. durchgeführt)

Die Fibroblasten stammten aus dem Knochenmark von Ratten , es handelte sich um Zellen der 51. bzw 76. Passage . Die Inkubation erfolgte als Petrischalen-Monolayerkultur unter 5% CO_2 in Luft für 72 h bei 37° C . Das Wachstumsmedium YELP hat folgende Zusammensetzung :

500 mg Hefeextrakt
5,0ml Eagle-Aminosäure-Lösg. (1 : 100 verd.)
2,0ml " -Vitamin-Stammlösg.
2,5 g Lactalbuminhydrolysat
5,0 g Bacto-Pepton
1,0 g $NaHCO_3$
100 ml HANK's " balanced salt solution " (BSS)
900 ml Aqua dest.

dazu: 290 mg Glutamin

Vor Gebrauch Zusatz von 5 % Kälberserum und Antibiotika (100 E/ml Penicillin , 50 µg Streptomycin und 50 E Nystatin) .
In einem ersten Versuch wurden je einmal 10 µg LPP/10 ml Nährmedium bzw 30 µg LPP/10 ml zugesetzt . Das Wachstum wurde beobachtet ; nach 72 h wurden die Zellen in Formalin fixiert und nach Giemsa gefärbt , anschließend wurde der Mitotische Koeffizient (= Mitosen pro 1000 Zellen) bestimmt und die prozentuale Verteilung der Mitosephasen ausgezählt .
In einem weiteren Versuch wurden 14 mg LPP / 10 ml Medium verwendet , in 1 ml befand sich also eine Konzentration von 140 µg , was der Menge des in-vivo applizierten LPP annähernd entspricht . Hier wurde eine Kollagenbestimmung durchgeführt , siehe 3 d) .

5) Heilung unter Spezialbedingungen

a) bei epinephrektomierten Tieren

aa) 21 männl. Ratten (330-360 g) im Versuch .

11 Tieren wurden in Äthernarkose vom Rücken her die beiden Nebennieren operativ entfernt . Das Bauchfell wurde dann mit steriler chirurgischer Nähseide adaptiert , die Hautpartien geklammert . Anschließend bekamen die Tiere je

zwei Stanzwunden (9 mm Ø) , von denen eine mit 400 µg LPP / 0,2 ml phys.NaCl -Lösg., die andere mit phys. Kochsalzlösg. behandelt wurde . Die restlichen Tiere wurden einer Scheinoperation unterzogen (Rückenhaut- und Bauchfell = inzisionen) , bevor die Stanzwunden gesetzt und wie oben lokal behandelt wurden . Die epinephrektomierten Tiere erhielten 0,9%ige NaCl-Lösg. statt Leitungswasser zu trinken . Nach Abschluß des Epithelisierungsprozesses , der mit dem Abstoßen der letzten Schorfinsel endet , wurden die adrenalektomierten Ratten wieder auf Leitungswasser um = gesetzt , um den radikalen Erfolg der OP zu kontrollieren . Die Auswertung erfolgte nach dem unter 2) beschriebenen Verfahren .

bb) 24 männl. Ratten im Versuch (200-230 g).
Wegen des unklaren Ergebnisses von b aa) wurde bei gleicher Versuchsanordnung die Tierzahl erhöht .
13 Tiere wurden epinephrektomiert , 11 dienten als Kontrollen.

b) bei Tieren mit Zweitwunden
43 weibl. Ratten (140-180 g) im Versuch .
Alle bekamen je zwei Stanzwunden gesetzt (9 mm Ø), eine wurde mit 400 µg LPP behandelt , die andere diente als Kontrolle . 34 Ratten wurde in wechselndem zeitlichen Abstand ein gleichartig behandeltes Paar von Zweitwunden 3 cm kaudal von der ersten Traumatisierung , die im Bereich der Schulterblätter stattgefunden hatte, beigebracht . Die durchschnittliche Heilungsdauer wurde ermittelt.

Gruppe I , 7 Tiere	:	einmalige Wundsetzung	
" II , 6 "	:	Zweitwunde nach	1/2 Tag
" III , 6 "	:	" "	1 "
" IV , 6 "	:	" "	2 Tagen
" V , 6 "	:	" "	3 "
" VI , 6 "	:	" "	4 "
" VII , 6 "	:	" "	7 "

6) Verteilungsstudien

Je 1 l eines Nähransatzes mit Keimen des Stammes 14885 a , der uns freundlicherweise von der Firma Dr. KADE , Berlin, zur Verfügung gestellt worden war , wurde 24 h im Brut = schrank bei 37° C inkubiert . Der einen Flasche wurden 2 mCi C 14(u-) Glukose (= 8,92 µmol) zugesetzt , der an = deren 2 mCi C 14(u-) Natriumazetat (=46 mCi/µmol) . An = schließend wurde die Bouillonkultur nach der Phenolex = traktionsmethode aufgearbeitet und die gereinigten LPP ge = trocknet . Die Ausbeute war jedoch so gering , daß weitere Nähransätze verarbeitet werden mußten . 2 l wurden mit 1 mCi C 14(u-) Glukose (= 5,38 µmol) inkubiert , 2 l mit 1 mCi C 14(u-) Glukose (= 5,08 µmol) . Die Gesamtausbeute betrug schließlich 1,4 mg markiertes LPP .

a) 2 männl. Ratten (150 g) wurde eine Inzisions- bzw. Exzisions = wunde nach den unter 1) und 2) beschriebenen Richtlinien beigebracht . Die lokale Behandlung wurde mit 0,2 ml LPP - Suspension (= 140 µg) vorgenommen . Danach wurden die Tiere 24 h in einem Stoffwechselkäfig gehalten . Anschließend wurden sie in Äthernarkose getötet , das Wundgebiet in einem Umkreis von 1,5 cm exzidiert und in 10 %iger Natronlauge 6 h bei 60° C hydrolysiert . Das Hydrolysat und der 24 h-Urin wurden dann im PACKARD Tri-Carb Scintillation Spectro = meter auf Radioaktivität untersucht . Um etwaige "quenching"-Effekte auszugleichen , wurde die Messung mit einem Internen Standard wiederholt , und zwar mit einer C 14-Toluol-Eich = lösung von 48000 dpm in 0,1 ml .

b) 4 männl. Ratten (150 g) wurden mit Exzisions- bzw. Inzisions = wunden (je 2 Tiere) versehen und in obiger Weise mit LPP behandelt . Danach wurden sie in eine Apparatur zum Auf = fangen des CO_2 ihrer Ausatmungsluft gebracht . Ein Vakuum =

gefäß , mit dem Tier darin , wurde über Gummischläuche mit einer Gaswaschflasche verbunden , die 100 ml 10 %ige NaOH enthielt ; die Waschflasche ihrerseits war an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen , die für das Absaugen der ausgeatmeten Luft sorgte . Aus technischen Gründen mußten die Ratten während der 24-stündigen Versuchsdauer ohne Wasser bleiben . Anschließend wurden Urin und CO_2-haltige Natronlauge untersucht , sowie , nach Hydrolysierung , Wund- und Lebergewebsproben . Wegen der geringen Zählausbeute wurde das CO_2 durch Zusatz von Schwefelsäure aus der NaOH freigesetzt und in 10 ml Äthanolamin aufgefangen , danach in Scintillator-Toluol gelöst und auf seinen Gehalt an C 14 untersucht .

7) Verträglichkeit

a) Toxizität

aa) 25 weibl. Wistarratten (100 g) im Versuch .
5 Tiere bekamen i.v.-Injektionen von phys.NaCl-Lösg. ,
5 Tiere 5 µg LPP/1,0 ml phys. NaCl-Lösg. , 2 Tiere 25 µg , 3 Tiere 100 µg , 3 Tiere 500 µg und die restlichen 2 µ1000 g . Dann wurde eine zweimonatige Beobachtungszeit angeschlossen .

bb) 47 weibl. SPF - Ratten (100 g) im Versuch .
25 Tiere bekamen 100 µg LPP/1,0 ml phys. NaCl-Lösg. i.v. , 22 Tiere 1,0 ml phys. NaCl . Anschließend wurde das Kollektiv für 4 Monate beobachtet .

b) Pyrogenität

aa) 9 weibl. Ratten (80 g) im Versuch .

6 Tiere bekamen 5 µg LPP/0,5 ml phys. NaCl-Lösg. i.v. , 1 Tier 50 µg , die restlichen 2 0,5 ml phys. NaCl-Lösg. Der Fieberanstieg wurde in Intervallen von 30 min mit dem Thermometer rektal kontrolliert .

bb) 10 weibl. Kaninchen (1,3-1,6 kg) im Versuch . 4 Tiere bekamen nach dreimaliger Kontrollmessung je 20 µg LPP/1,0 ml phys. NaCl-Lösg. in die marginale Ohrvene injiziert, je 1 Tier bekam 10 µg , 40 , 80 und 800 µg . Die übrigen 2 dienten als Kontrollen (NaCl) .

cc) 3 weibl. Kaninchen (1,6-1,8 kg) im Versuch . Es wurde die Fieberreaktion auf Mehrfachinjektion untersucht . Tier A bekam am 1. Tag 20 µg LPP/1,0 ml , Tier B zunächst ebenfalls 20 µg , nach Abklingen des Fiebers erneut 20 µg , Tier C 40 µg . Diese Behandlung wurde über 8 Tage fortgesetzt .

c) Antigenität

aa) 10 weibl. Kaninchen (1,5-1,6 kg) im Versuch . An vier aufeinanderfolgenden Tagen wurden die Tiere mit 4 x 10 µg LPP i.c. in die Rückenhaut sensibilisiert . Am 1. und 3.Tag wurden zusätzlich je 2 x 0,03 ml komplet tes FREUNDsches Adjuvans i.c. gegeben . Nach einem Intervall von 16 Tagen wurde in Abständen von 8 Tagen mehrfach versucht , mit i.c.-Gaben von 0,05 ml 1 %iger und 0,1 %iger LPP-Suspension Auslösungsreaktionen zu provozieren . Die Entzündungsreaktion wurde makroskopisch auf die LEWISsche Trias (186) untersucht und das Auftreten nekrotischer Gewebsabschnitte registriert . Außerdem wurden Probeexzisionen entnommen und histologisch (H.-E.-Färbung) untersucht . Wegen einiger Todesfälle durch Stallinfektion während des Versuchs wurde dieser Ansatz mit 12 weiteren Kaninchen der gleichen Gewichtsklasse wiederholt .

bb) 14 weibl. Meerschweinchen (ca 350 g) im Versuch . 10 Tiere wurden nach obigem Muster sensibilisiert , 4 Tiere ohne Sensibilisierung erhielten am Tag der Auslösung erstmalig Toxininjektionen . Probeexzisionen wurden histologisch untersucht .

E R G E B N I S S E

1) Reißfestigkeit von Inzisionswunden

a) Für die 12 Tiere nach Behandlung mit 600 µg LPP ergab sich ein Mittelwert von 1252,5 g ± 137,7 g , für die 12 Kontrolltiere ein Mittelwert von 1095,8 g ± 111,3 g .

Daraus resultierte ein t-Wert von 3,06 , somit war P = 0,0021

b) Wirkungsvergleich verschiedener Extraktionsformen und Dosierungen gegenüber Kontrollen und HCH-behandelten Tieren .

Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefaßt :

Tabelle 2 (Ratten)

Reißfestigkeitsbestimmung am 14. Tag
(Die Tiere der Gruppe B waren größer und älter als die der Gruppe A)

	Behandlung	Reißfestigkeit (g) (M ± σ)	Tierzahl	t	P
A)	Kontrollen (NaCl)	1003,8 ± 145,7	13	-	-
	65°- LPP (200 µg)	1387,6 ± 269,1	17	4,99	< 0,0002
	65°- LPP (400 µg)	1340,6 ± 138,5	15	6,23	<0,0002
	5°- LPP (400 µg)	1240,0 ± 210,9	13	3,32	< 0,005
	LPP & HCH	1271,5 ± 256,6	13	3,27	< 0,005
	HCH (200 mg/kg)	1420,7 ± 184,3	14	5,45	< 0,0002
	Kontrollen (Ol. rapae)	1010,7 ± 212,4	14	-	-
B)	5°-"RNA" (400 µg)	1313,0 ± 180,7	13	1,61	< 0,2
	65°-"RNA" (400 µg)	1182,0 ± 287,2	15	0,33	>0,5
	Kontrollen (NaCl)	1210,0 ± 151,5	15	-	-

Es zeigte sich , daß beide Dosen der 65°- Fraktion des LPP und auch das HCH signifikant wirksam waren , während das 5°- LPP in der gewählten Dosis einen weniger ausgeprägten Effekt zeigte . Die Kombination von 65°- LPP und HCH er = brachte weit niedrigere Werte als die beiden Substanzen in getrennten Versuchen . Die 5°- und 65°- "RNA"- Fraktionen spielen für die Beeinflussung der Reißfestigkeit anscheinend keine Rolle .

2) Heilungsgeschwindigkeit von Exzisionswunden

a) Lokale Applikation (200 µg LPP/0,2 ml phys. NaCl) bei Meerschweinchen .
Die statistische Auswertung ist der Tabelle 3 zu entnehmen . Außerdem sind die Ergebnisse in der Abbildung 1 graphisch dargestellt .

Ergebnis : Zwischen dem 8. und 16. Tag ergaben sich gegen = über den Kontrollwunden signifikante Beschleun = igungen des Heilungsverlaufs ; das Optimum be = stand am 13. und 14. Tag .

Legende zu Abb. 1 : Der Heilungsverlauf der Stanzwunden wurde nach der beschriebenen gravimetrischen Methode in mg Papier in Abhängigkeit von der Zeit aufgetragen , wobei die Mittelwerte mit Standard = abweichung dargestellt wurden . Man erkennt , daß die LPP-Kurve bis zum 8. Tag annähernd linearen Verlauf nimmt , zwischen dem 8. und 12. Tag steil abfällt und wieder linear verläuft . Gleiches gilt auch für die Kurve der Kontrollwerte .

Tabelle 3 (Meerschweinchen)

Heilungsverlauf im Stanzwundentest

Tag nach der Wundsetzung		Gew. der Wundsilhouette (mg) (M ± G)	t	P
1	Kontr. :	8,277 ± 0,531	1,324	< 0,3
	LPP :	8,048 ± 0,535		
2	K. :	7,621 ± 0,686		
	L. :	7,245 ± 0,588	1,813	< 0,1
4	K. :	6,916 ± 0,668		
	L. :	6,630 ± 0,860	1,144	< 0,4
5	K. :	6,328 ± 0,741		
	L. :	6,022 ± 0,701	1,307	< 0,3
6	K. :	6,087 ± 0,722		
	L. :	5,559 ± 0,698	1,944	< 0,1
7	K. :	5,717 ± 0,733		
	L. :	5,078 ± 0,850	2,481	< 0,02
8	K. :	5,246 ± 0,857		
	L. :	4,407 ± 0,814	3,094	< 0,005
9	K. :	4,815 ± 0,994		
	L. :	3,950 ± 0,737	3,047	< 0,005
11	K. :	2,741 ± 0,970		
	L. :	1,830 ± 0,676	3,358	< 0,0021
12	K. :	1,963 ± 0,660		
	L. :	1,132 ± 0,697	3,773	< 0,001
13	K. :	1,223 ± 0,435		
	L. :	0,360 ± 0,464	5,914	< 0,0002
14	K. :	0,918 ± 0,477		
	L. :	0,071 ± 0,213	7,067	< 0,0002
15	K. :	0,392 ± 0,446		
	L. :	0,017 ± 0,075	3,614	< 0,001
16	K. :	0,293 ± 0,380		
	L. :	0,000 ± 0,000	3,360	< 0,0021
18	K. :	0,050 ± 0,155		
	L. :	0,000 ± 0,000	1,406	< 0,3

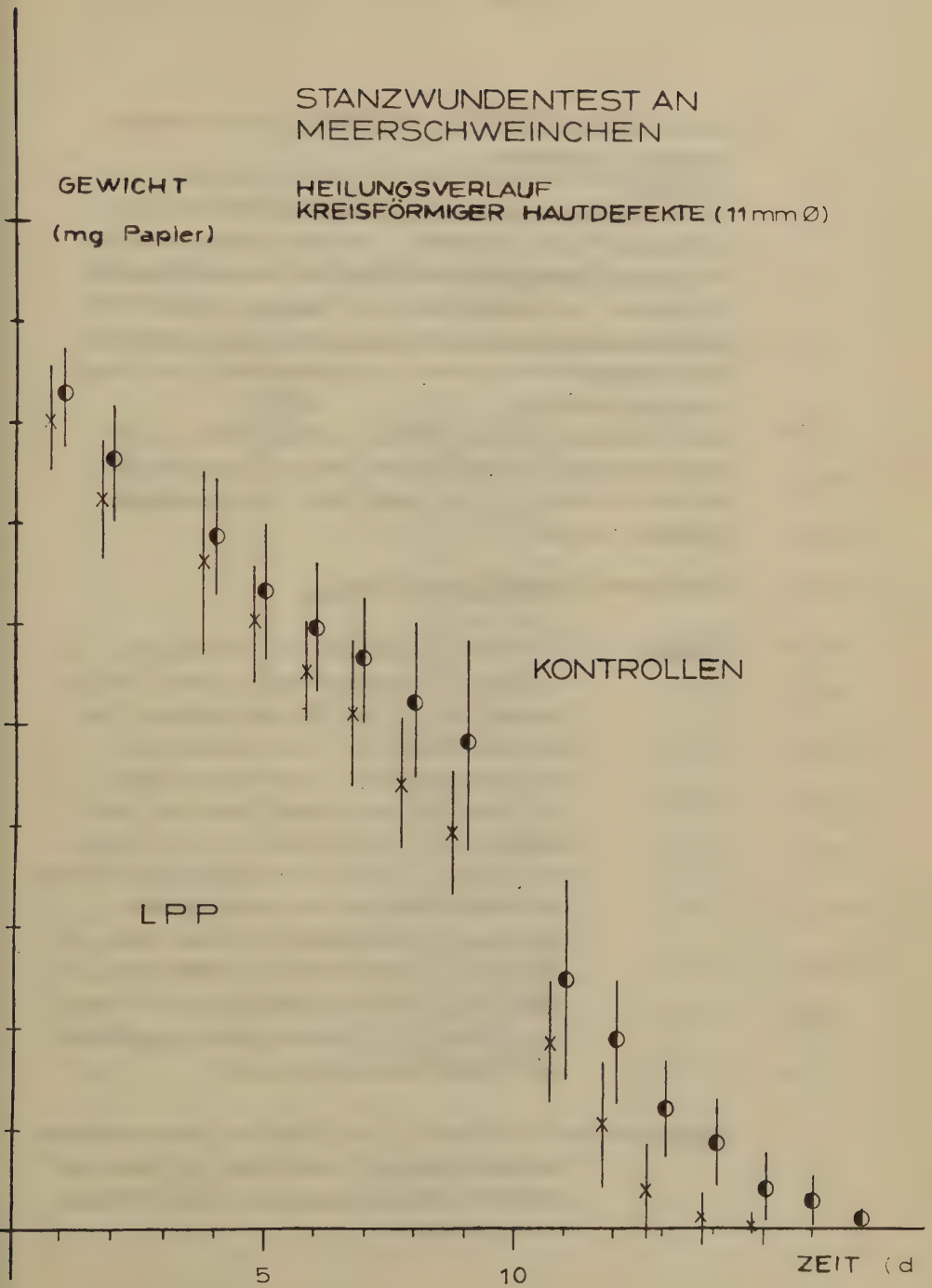

STANZWUNDENTEST AN
MEERSCHWEINCHEN
GEWICHT
(mg Papier)
HEILUNGSVERLAUF
KREISFÖRMIGER HAUTDEFEKTE (11 mm Ø)
KONTROLLEN
LPP
5
10
ZEIT (d

Abb. 1

b) Lokale Applikation verschiedener Dosen LPP bei Ratten beiderlei Geschlechts .

In den Tabellen 4 - 9 wird der Heilungsverlauf jeder einzelnen Gruppe aufgeführt . Um eine Aussage über die eventuelle Abhängigkeit von Dosis und Geschlecht machen zu können , ist zusätzlich in der Tabelle 10 die Heilungsgeschwindigkeit der einzelnen Gruppen gegenüber dem gemeinsamen Mittelwert aller Kontrollen (= 60 Tiere) berechnet worden .
Aus technischen Gründen mußten die Operationen an zwei Tagen ausgeführt werden , sodaß für alle sechs Gruppen nur am 2., 4.-6., 11.-14. sowie am 16. Tag gemeinsame Meßwerte vorlagen

Vergleiche die Abbildungen 2 und 3 .

Ergebnis : Der Effekt des LPP auf die Wundheilung beginnt bei Anwendung kleiner Dosen (200 µg) zwischen dem 13. und 14. Heilungstag ; die Heilungstendenz ist bei den männlichen Tieren ausgeprägter . Mit höheren Dosen (400 µg) läßt sich schon früher ein sig - nifikanter Effekt nachweisen (4.-5., teil - weise sogar 2. Tag!) . Es betrifft in diesem Fall sowohl Männchen als auch Weibchen . Eine weitere Verdopplung der Dosis (800 µg) verbessert den Effekt auf die Wundheilung nicht mehr ; bei den Weibchen ist eher sogar eine Tendenz zur Verschlechterung gegenüber der 400 µg-Gruppe zu erkennen .

Legende zu den Abb. 2 und 3 : Die Graphiken unterstreichen das oben Gesagte . Auffällig ist wieder der mehr oder weniger ausgeprägte stufenförmige Kurvenverlauf .

Tabelle 4 (Ratten)

Heilungsverlauf im Stanzwundentest an Weibchen nach lokaler Applikation von 200 µg LPP

Tag nach der Wundsetzung		Gew. der Wundsilhouette (mg) (M ± σ)	t	P
2	Kontr.	3,936 ± 0,330		
	LPP	3,800 ± 0,335	0,914	< 0,5
3	K.	3,490 ± 0,379		
	L.	2,917 ± 0,390	3,331	< 0,005
4	K.	3,209 ± 0,217		
	L.	2,588 ± 0,483	3,708	< 0,0021
5	K.	3,011 ± 0,344		
	L.	2,356 ± 0,427	3,777	< 0,0021
6	K.	2,583 ± 0,625		
	L.	1,904 ± 0,612	2,454	< 0,02
9	K.	1,683 ± 0,434		
	L.	1,149 ± 0,330	3,097	< 0,01
10	K.	1,400 ± 0,216		
	L.	0,923 ± 0,203	4,827	< 0,0002
11	K.	1,125 ± 0,085		
	L.	0,615 ± 0,373	3,999	< 0,001
12	K.	0,953 ± 0,115		
	L.	0,523 ± 0,331	3,681	< 0,001
13	K.	0,847 ± 0,143		
	L.	0,362 ± 0,298	4,401	< 0,0002
14	K.	0,756 ± 0,179		
	L.	0,238 ± 0,302	4,426	< 0,0002
16	K.	0,485 ± 0,380		
	L.	0,101 ± 0,213	2,644	< 0,02
17	K.	0,340 ± 0,332		
	L.	0,000 ± 0,000	3,072	< 0,01

Tabelle 5 (Ratten)

Heilungsverlauf im Stanzwundentest an Männchen nach lokaler Applikation von 200 µg LPP

Tag nach der Wundsetzung		Gew. der Wundsilhouette (mg) (M ± σ)	t	P
1	Kontr.	4,340 ± 0,490		
	LPP	4,288 ± 0,491	0,237	>0,5
2	K.	3,962 ± 0,622		
	L.	3,757 ± 0,666	0,711	>0,5
4	K.	3,767 ± 0,578		
	L.	3,221 ± 0,399	2,458	<0,05
5	K.	3,143 ± 0,222		
	L.	2,667 ± 0,541	2,574	<0,05
6	K.	2,754 ± 0,597		
	L.	2,282 ± 0,508	1,904	<0,2
7	K.	2,673 ± 0,497		
	L.	1,896 ± 0,574	3,236	<0,01
8	K.	2,421 ± 0,447		
	L.	1,731 ± 0,603	2,906	<0,02
11	K.	1,264 ± 0,327		
	L.	0,804 ± 0,277	3,394	<0,01
12	K.	1,069 ± 0,246		
	L.	0,543 ± 0,438	3,311	<0,01
13	K.	0,937 ± 0,209		
	L.	0,158 ± 0,333	6,265	<0,0002
14	K.	0,768 ± 0,338		
	L.	0,064 ± 0,202	5,653	<0,0002
15	K.	0,428 ± 0,419		
	L.	0,000 ± 0,000	3,230	<0,01
16	K.	0,183 ± 0,300		
	L.	0,000 ± 0,000	1,928	<0,1
18	K.	0,061 ± 0,192		
	L.	0,000 ± 0,000	1,004	<0,4
19	K.	0,000 ± 0,000		
	L.	0,000 ± 0,000	0,000	=1

Tabelle 6 (Ratten)

Heilungsverlauf im Stanzwundentest an Weibchen nach lokaler Applikation von 800 µg LPP

Tag nach der Wundsetzung		Gew. der Wundsilhouette (mg) (M ± b)	t	P
1	Kontr. :	3,587 ± 0,286		
	LPP :	3,519 ± 0,323	0,498	> 0,5
2	K. :	3,063 ± 0,467		
	L. :	2,717 ± 0,435	1,714	< 0,2
4	K. :	2,581 ± 0,703		
	L. :	2,402 ± 0,628	0,600	> 0,5
5	K. :	2,311 ± 0,648		
	L. :	1,961 ± 0,553	1,344	< 0,3
6	K. :	2,207 ± 0,726		
	L. :	1,796 ± 0,533	1,369	< 0,3
7	K. :	1,654 ± 0,720		
	L. :	1,184 ± 0,580	1,607	< 0,2
8	K. :	1,457 ± 0,517		
	L. :	1,078 ± 0,402	1,830	< 0,2
11	K. :	0,713 ± 0,230		
	L. :	0,406 ± 0,253	2,839	< 0,01
12	K. :	0,692 ± 0,201		
	L. :	0,268 ± 0,313	3,094	< 0,01
13	K. :	0,569 ± 0,193		
	T. :	0,212 ± 0,274	3,368	< 0,005
14	K. :	0,436 ± 0,281		
	T. :	0,099 ± 0,212	3,027	< 0,01
15	K. :	0,282 ± 0,233		
	T. :	0,021 ± 0,066	3,408	< 0,0021
16	K. :	0,080 ± 0,172		
	T. :	0,000 ± 0,000	1,470	< 0,3

Tabelle 7 (Ratten)

Heilungsverlauf im Stanzwundentest an Männchen nach lokaler Applikation von 400 µg LPP

Tag nach der Wundsetzung		Gew. der Wundsilhouette (mg) (M ± σ)	t	P
2	Kontr.	3,667 ± 0,399		
	LPP	3,698 ± 0,355	0,183	> 0,5
3	K.	3,033 ± 0,408		
	L.	2,757 ± 0,486	1,375	< 0,3
4	K.	2,816 ± 0,242		
	L.	2,375 ± 0,457	2,696	< 0,05
5	K.	2,690 ± 0,344		
	L.	2,131 ± 0,359	3,555	< 0,0021
6	K.	2,500 ± 0,279		
	L.	1,715 ± 0,507	4,289	< 0,0005
9	K.	0,906 ± 0,332		
	L.	0,415 ± 0,111	4,207	< 0,0005
10	K.	0,612 ± 0,152		
	L.	0,283 ± 0,148	4,652	< 0,0002
11	K.	0,452 ± 0,146		
	L.	0,144 ± 0,117	4,938	< 0,0002
12	K.	0,332 ± 0,131		
	L.	0,024 ± 0,048	6,622	< 0,0002
13	K.	0,266 ± 0,106		
	L.	0,011 ± 0,033	6,890	< 0,0002
14	K.	0,160 ± 0,107		
	L.	0,060 ± 0,030	4,049	< 0,001
16	K.	0,046 ± 0,072		
	L.	0,000 ± 0,000	1,916	< 0,1

Tabelle 8 (Ratten)

Heilungsverlauf im Stanzwundentest an Weibchen nach lokaler Applikation von 800 µg LPP

Tag nach der Wundsetzung		Gew. der Wundsilhouette (mg) (M ± σ)	t	P
1	Kontr.	3,271 ± 0,538		
	LPP	3,267 ± 0,469	0,017	> 0,5
2	K.	3,045 ± 0,475		
	L.	2,756 ± 0,480	1,446	< 0,3
4	K.	2,486 ± 0,502		
	L.	2,038 ± 0,553	1,896	< 0,2
5	K.	2,187 ± 0,653		
	L.	1,792 ± 0,766	1,240	< 0,3
6	K.	2,063 ± 0,705		
	L.	1,485 ± 0,695	1,846	< 0,2
7	K.	1,850 ± 0,590		
	L.	1,278 ± 0,551	2,240	< 0,1
8	K.	1,615 ± 0,625		
	L.	1,004 ± 0,582	2,146	< 0,1
11	K.	1,023 ± 0,571		
	L.	0,777 ± 0,304	1,075	< 0,4
12	K.	0,833 ± 0,458		
	L.	0,567 ± 0,342	1,316	< 0,3
13	K.	0,656 ± 0,378		
	L.	0,290 ± 0,294	2,161	< 0,1
14	K.	0,490 ± 0,288		
	L.	0,198 ± 0,279	2,059	< 0,1
15	K.	0,285 ± 0,282		
	L.	0,160 ± 0,225	0,980	> 0,5
16	K.	0,151 ± 0,227		
	L.	0,102 ± 0,195	0,463	> 0,5
18	K.	0,055 ± 0,120		
	L.	0,000 ± 0,000	1,296	< 0,3

Tabelle 9 (Ratten)

Heilungsverlauf im Stanzwundentest an Männchen nach lokaler Applikation von 800 µg LPP

Tag nach der Wundsetzung		Gew. der Wundsilhouette (mg) (M ± σ)	t	P
2	Kontr.	3,660 ± 0,359		
	LPP	3,571 ± 0,425	0,505	>0,5
3	K.	3,374 ± 0,374		
	L.	3,036 ± 0,511	1,687	<0,2
4	K.	3,048 ± 0,446		
	L.	2,648 ± 0,475	1,941	<0,1
5	K.	2,744 ± 0,553		
	L.	2,262 ± 0,578	1,905	<0,1
6	K.	2,615 ± 0,485		
	L.	1,930 ± 0,494	3,128	<0,005
9	K.	1,505 ± 0,570		
	L.	0,900 ± 0,434	2,670	<0,02
10	K.	1,224 ± 0,496		
	L.	0,734 ± 0,366	2,513	<0,02
11	K.	1,079 ± 0,459		
	L.	0,206 ± 0,363	4,717	<0,0002
12	K.	0,954 ± 0,421		
	L.	0,091 ± 0,287	5,356	<0,0002
13	K.	0,708 ± 0,509		
	L.	0,000 ± 0,000	4,398	<0,0005
14	K.	0,471 ± 0,499		
	L.	0,000 ± 0,000	2,984	<0,01
16	K.	0,174 ± 0,382		
	L.	0,000 ± 0,000	1,440	<0,3
17	K.	0,120 ± 0,289		
	L.	0,000 ± 0,000	1,313	<0,3
18	K.	0,076 ± 0,177		
	L.	0,000 ± 0,000	1,357	<0,3

Tabelle 10 (Ratten)

Signifikanzwerte der sechs Gruppen aus den vorigen Tabellen gegenüber dem Mittelwert des gesamten Kollektivs der Kontrolltiere an den Tagen 2,4,5,6,11,12,13,14 und 16
(Statistisch hochsignifikante Unterschiede sind unterstrichen)

---

2. Tag : Kontrollen (M ± σ) = 3,555 ± 0,573 mg

200	µg-Weibchen	t = 1,896	P < 0,1
200	µg-Männchen	t = 0,904	P > 0,4
400	µg-Weibchen	t = 5,365	P < 0,0002
400	µg-Männchen	t = 1,063	P < 0,4
800	µg-Weibchen	t = 4,850	P < 0,0002
800	µg-Männchen	t = 0,104	P > 0,5

4. Tag : Kontrollen (M ± σ) = 2,984 ± 0,631 mg

200	µg-Weibchen	t = 2,287	P < 0,05
200	µg-Männchen	t = 1,578	P < 0,2
400	µg-Weibchen	t = 2,711	P < 0,01
400	µg-Männchen	t = 3,671	P < 0,0005
800	µg-Weibchen	t = 4,903	P < 0,0002
800	µg-Männchen	t = 1,966	P < 0,1

5. Tag : Kontrollen (M ± σ) = 2,681 ± 0,582 mg

200	µg-Weibchen	t = 2,103	P < 0,05
200	µg-Männchen	t = 0,074	P > 0,5
400	µg-Weibchen	t = 3,782	P < 0,0005
400	µg-Männchen	t = 4,040	P < 0,0002
800	µg-Weibchen	t = 3,505	P < 0,0005
800	µg-Männchen	t = 2,120	P < 0,05

6. Tag : Kontrollen (M ± σ) = 2,453 ± 0,614 mg

200	µg-Weibchen	t = 2,625	P < 0,01
200	µg-Männchen	t = 0,954	P > 0,4
400	µg-Weibchen	t = 3,527	P < 0,0005
400	µg-Männchen	t = 4,126	P < 0,0002
800	µg-Weibchen	t = 4,143	P < 0,0002
800	µg-Männchen	t = 2,985	P < 0,005

Tabelle 10 (Fortsetzung)

11. Tag :	Kontrollen (M ± σ)	= 0,945 ± 0,429 mg		
	200 µg-Weibchen	:	t = 2,410	P < 0,02
	200 µg-Männchen	:	t = 1,346	P < 0,2
	400 µg-Weibchen	:	t = 5,476	P < 0,0002
	400 µg-Männchen	:	t =11,552	P < 0,0002
	800 µg-Weibchen	:	t = 1,379	P < 0,2
	800 µg-Männchen	:	t = 5,759	P < 0,0002
12. Tag :	Kontrollen (M ± σ)	= 0,799 ± 0,373 mg		
	200 µg-Weibchen	:	t = 2,279	P < 0,05
	200 µg-Männchen	:	t = 1,739	P < 0,1
	400 µg-Weibchen	:	t = 4,791	P < 0,0002
	400 µg-Männchen	:	t =14,804	P < 0,0002
	800 µg-Weibchen	:	t = 1,773	P < 0,1
	800 µg-Männchen	:	t = 6,837	P < 0,0002
13. Tag :	Kontrollen (M ± σ)	= 0,669 ± 0,386 mg		
	200 µg-Weibchen	:	t = 2,742	P < 0,01
	200 µg-Männchen	:	t = 4,357	P < 0,0002
	400 µg-Weibchen	:	t = 4,532	P < 0,0002
	400 µg-Männchen	:	t =12,475	P < 0,0002
	800 µg-Weibchen	:	t = 3,266	P < 0,0021
	800 µg-Männchen	:	t =12,969	P < 0,0002
14. Tag :	Kontrollen (M ± σ)	= 0,531 ± 0,359 mg		
	200 µg-Weibchen	:	t = 2,627	P < 0,01
	200 µg-Männchen	:	t = 5,845	P < 0,0002
	400 µg-Weibchen	:	t = 5,240	P < 0,0002
	400 µg-Männchen	:	t =10,631	P < 0,0002
	800 µg-Weibchen	:	t = 3,035	P < 0,0021
	800 µg-Männchen	:	t =11,068	P < 0,0002
16. Tag :	Kontrollen (M ± σ)	= 0,185 ± 0,303 mg		
	200 µg-Weibchen	:	t = 1,027	P < 0,4
	200 µg-Männchen	:	t = 4,569	P < 0,0002
	400 µg-Weibchen	:	t = 4,569	P < 0,0002
	400 µg-Männchen	:	t = 4,569	P < 0,0002
	800 µg-Weibchen	:	t = 1,038	P < 0,4
	800 µg-Männchen	:	t = 4,569	P < 0,0002

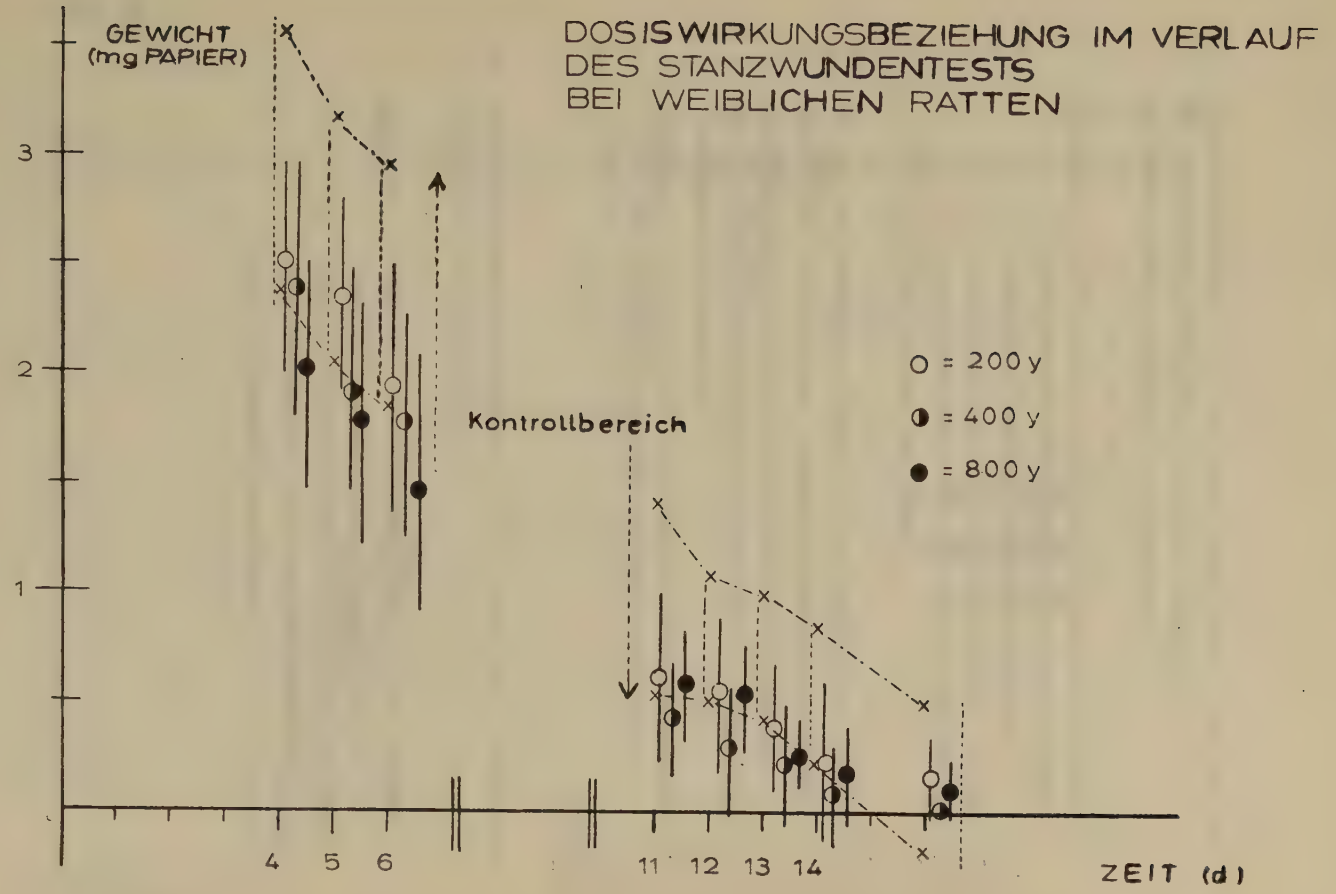

GEWICHT
(mg PAPIER)
DOSISWIRKUNGSBEZIEHUNG IM VERLAUF
DES STANZWUNDENTESTS
BEI WEIBLICHEN RATTEN
3
2
1
Kontrollbereich
○ = 200 y
◑ = 400 y
● = 800 y
4
5
6
11
12
13
14
ZEIT (d)

Abb 2

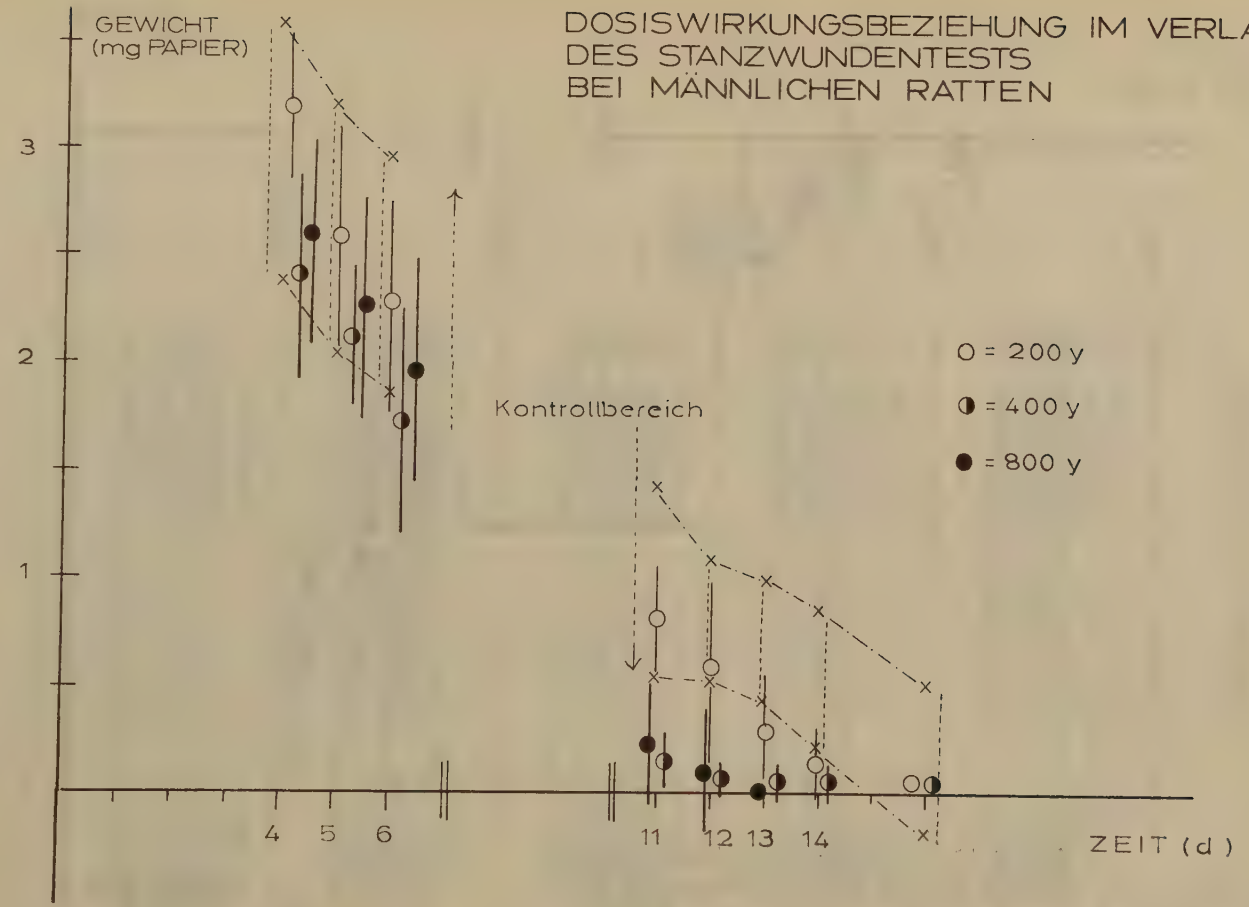

DOSISWIRKUNGSBEZIEHUNG IM VERLAUF
DES STANZWUNDENTESTS
BEI MÄNNLICHEN RATTEN
GEWICHT
(mg PAPIER)
3
2
1
Kontrollbereich
○ = 200 y
◑ = 400 y
● = 800 y
4
5
6
11
12
13
14
ZEIT (d)

Abb. 3

c) Intravenöse Gabe (2 x 5 µg , 2 x 10 µg bzw. 2 x 20 µg LPP) bei Ratten mit kranialen und kaudalen Wunden .
Die Werte sind der Tabelle 11 zu entnehmen .

Ergebnis : Bei allen i.v. applizierten Dosen war während des gesamten Heilungsverlaufes von 19 Tagen gegenüber den Kontrollen kein einziger Signifikanzwert P kleiner als 0,05 . In den geprüften Mengen ist das LPP bei intravenöser Gabe demnach unwirksam.

Da sich die behandelten Tiere von den Kontrollen nicht wesentlich unterschieden , wurde das Gesamtkollektiv von 15 Tieren zum Vergleich der Heilungsgeschwindigkeiten kranialer und kaudaler Wunden herangezogen . (Tabelle 12)

Ergebnis : Am 15. und 16. Tag ergaben sich Signifikanzen von 0,05 zugunsten der kranialen Wunden .

d) Intraperitoneale Mehrfachgabe (12 x 100 µg LPP) bei Ratten .
Vergleiche dazu Tabelle 13 .

Ergebnis : Während einer Gesamtheilungszeit von 20 Tagen lag ein einziger P-Wert unter 0,5 .
Auch in dieser Konzentration ist das LPP also bei parenteraler Gabe ohne sichtbaren Einfluß auf die Wundheilungsprozesse .

Tabelle 11 (Ratten)

Heilungsgeschwindigkeit im Stanzwundentest bei i.v.-Gabe von LPP ($M \pm \sigma$ in mg)

1. Tag	Kontrollen	3,737 ± 0,287		
	LPP (5µg)	3,837 ± 0,107	t = 0,652	P > 0,5
	" (10µg)	4,112 ± 0,546	t = 0,215	P < 0,3
	" (20µg)	4,783 ± 0,575	t = 2,303	P < 0,2
2. Tag	Kontrollen	3,532 ± 0,314		
	LPP (5µg)	3,357 ± 0,280	t = 0,831	P < 0,1
	" (10µg)	3,695 ± 0,202	t = 0,873	P > 0,5
	" (20µg)	4,256 ± 0,854	t = 1,399	P < 0,3
4. Tag	Kontrollen	2,570 ± 0,354		
	LPP (5µg)	2,800 ± 0,381	t = 0,884	P > 0,5
	" (10µg)	3,122 ± 0,296	t = 2,658	P < 0,05
	" (20µg)	2,980 ± 0,470	t = 1,265	P < 0,4
5. Tag	Kontrollen	2,102 ± 0,465		
	LPP (5µg)	2,162 ± 0,365	t = 0,202	P < 0,4
	" (10µg)	1,637 ± 0,208	t = 1,825	P < 0,2
	" (20µg)	2,530 ± 0,824	t = 0,808	P > 0,5
6. Tag	Kontrollen	1,617 ± 0,243		
	LPP (5µg)	1,700 ± 0,637	t = 0,243	P < 0,4
	" (10µg)	1,375 ± 0,189	t = 1,572	P < 0,1
	" (20µg)	1,953 ± 0,443	t = 1,186	P < 0,3
7. Tag	Kontrollen	1,185 ± 0,384		
	LPP (5µg)	1,632 ± 0,706	t = 1,112	P > 0,5
	" (10µg)	0,892 ± 0,045	t = 1,515	P < 0,2
	" (20µg)	1,610 ± 0,607	t = 1,063	P < 0,4
8. Tag	Kontrollen	0,835 ± 0,073		
	LPP (5µg)	1,347 ± 0,442	t = 2,285	P < 0,5
	" (10µg)	0,710 ± 0,289	t = 0,838	P > 0,5
	" (20µg)	0,986 ± 0,447	t = 0,579	P > 0,5

Tabelle 11 (Fortsetzung)

11. Tag :	Kontrollen :	0,062 ± 0,125		
	LPP (5µg) :	0,947 ± 0,705	t = 2,472	P < 0,3
	" (10µg) :	0,315 ± 0,363	t = 1,317	P < 0,4
	" (20µg) :	0,806 ± 0,704	t = 1,191	P < 0,2
12. Tag :	Kontrollen :	0,000 ± 0,000		
	LPP (5µg) :	0,655 ± 0,525	t = 2,376	P < 0,3
	" (10µg) :	0,205 ± 0,236	t = 1,737	P < 0,4
	" (20µg) :	0,666 ± 0,604	t = 1,909	P < 0,4
13. Tag :	Kontrollen :	0,000 ± 0,000		
	LPP (5µg) :	0,517 ± 0,597	t = 1,731	P < 0,4
	" (10µg) :	0,220 ± 0,258	t = 1,705	P < 0,4
	" (20µg) :	0,606 ± 0,536	t = 1,958	P < 0,3
14. Tag :	Kontrollen :	0,000 ± 0,000		
	LPP (5µg) :	0,430 ± 0,497	t = 1,730	P < 0,4
	" (10µg) :	0,165 ± 0,190	t = 1,736	P < 0,4
	" (20µg) :	0,500 ± 0,438	t = 1,977	P < 0,3
15. Tag :	Kontrollen :	0,000 ± 0,000		
	LPP (5µg) :	0,000 ± 0,000	t = 0,000	P = 1,0
	" (10µg) :	0,085 ± 0,170	t = 0,999	P > 0,5
	" (20µg) :	0,226 ± 0,392	t = 1,060	P > 0,5

Tabelle 12 (Ratten)

Vergleich der Heilungsgeschwindigkeit
von kranialen und kaudalen Wunden
(M ± σ in mg)

1. Tag :	Kranial	3,988 ± 0,406		
	Kaudal	4,023 ± 0,532	t = 0,202	P > 0,5
2. Tag :	Kran.	3,674 ± 0,508		
	Kaud.	3,564 ± 0,516	t = 0,588	P > 0,5
4. Tag :	Kran.	2,618 ± 0,440		
	Kaud.	2,974 ± 0,593	t = 1,867	P < 0,1
5. Tag :	Kran.	2,080 ± 0,531		
	Kaud.	2,462 ± 0,585	t = 1,872	P < 0,1
6. Tag :	Kran.	1,642 ± 0,421		
	Kaud.	2,174 ± 0,714	t = 2,485	P < 0,1
7. Tag :	Kran.	1,311 ± 0,543		
	Kaud.	1,882 ± 0,825	t = 2,239	P < 0,1
8. Tag :	Kran.	0,968 ± 0,393		
	Kaud.	1,422 ± 0,588	t = 2,486	P < 0,1
11. Tag :	Kran.	0,514 ± 0,592		
	Kaud.	0,919 ± 0,456	t = 2,099	P < 0,1
12. Tag :	Kran.	0,389 ± 0,480		
	Kaud.	0,740 ± 0,495	t = 1,971	P < 0,2
13. Tag :	Kran.	0,318 ± 0,439		
	Kaud.	0,640 ± 0,483	t = 1,954	P < 0,2
14. Tag :	Kran.	0,258 ± 0,361		
	Kaud.	0,528 ± 0,408	t = 1,919	P < 0,2
15. Tag :	Kran.	0,068 ± 0,190		
	Kaud.	0,422 ± 0,382	t = 3,213	P < 0,05
16. Tag :	Kran.	0,000 ± 0,000		
	Kaud.	0,284 ± 0,331	t = 3,323	P < 0,05

Tabelle 13 (Ratten)

Heilungsverlauf im Stanzwundentest
bei i.p.-Mehrfachgabe von LPP
(M ± s in mg)

1. Tag :	Kontr.	: 4,113 ± 0,372		
	LPP	: 4,256 ± 0,424	t = 0,786	P < 0,5
3. Tag :	K.	: 3,413 ± 0,462		
	L.	: 3,569 ± 0,516	t = 0,685	P > 0,5
4. Tag :	K.	: 3,207 ± 0,462		
	L.	: 2,731 ± 0,599	t = 0,634	P > 0,5
5. Tag :	K.	: 2,908 ± 0,615		
	L.	: 2,696 ± 0,487	t = 0,674	P > 0,5
6. Tag :	K.	: 2,715 ± 0,659		
	L.	: 2,385 ± 0,664	t = 1,143	P < 0,5
7. Tag :	K.	: 2,514 ± 0,636		
	L.	: 1,989 ± 0,510	t = 2,250	P < 0,05
10. Tag :	K.	: 1,794 ± 0,696		
	L.	: 1,563 ± 0,663	t = 0,751	P < 0,5
11. Tag :	K.	: 1,326 ± 0,585		
	L.	: 1,263 ± 0,571	t = 0,129	P > 0,5
12. Tag :	K.	: 1,137 ± 0,544		
	L.	: 1,105 ± 0,519	t = 0,125	P > 0,5
13. Tag :	K.	: 0,978 ± 0,456		
	L.	: 0,964 ± 0,498	t = 0,047	P > 0,5
14. Tag :	K.	: 0,832 ± 0,398		
	L.	: 0,705 ± 0,507	t = 0,642	P > 0,5
17. Tag :	K.	: 0,513 ± 0,427		
	L.	: 0,492 ± 0,413	t = 0,105	P > 0,5
18. Tag :	K.	: 0,327 ± 0,386		
	L.	: 0,362 ± 0,371	t = 0,234	P > 0,5
20. Tag :	K.	: 0,243 ± 0,297		
	L.	: 0,251 ± 0,301	t = 0,074	P > 0,5
21. Tag :	K.	: 0,172 ± 0,210		
	L.	: 0,136 ± 0,225	t = 0,410	P > 0,5

3) Schwammgranulomtest

a & b) Bestimmung von Feuchtgewicht , Trockengewicht und Reißfestigkeit

aa) Feuchtgewicht des Gesamtgranuloms am 14. Tag .

M ± δ :

Kontrollen : 1,271 ± 0,204 g

LPP (200 µg) : 1,475 ± 0,188 g t = 2,547 P > 0,02

bb) Feuchtgewicht von Granulomen nach lokaler Anwendung von LPP (200 µg) bzw. peroraler Anwendung von HCH (200 mg/kg Körpergewicht) am 10. Tag .

M ± δ :

Kontrollen	0,835 ± 0,335 g		
LPP	1,516 ± 0,322 g	t = 4,961	P > 0,0002
HCH	1,165 ± 0,504 g	t = 1,960	P > 0,1

cc) Feuchtgewicht von Granulomen nach lokaler Anwendung von LPP in zwei verschiedenen Dosen am 11. Tag .

M ± δ :

Kontrollen	0,639 ± 0,209 g		
LPP (200 µg)	0,868 ± 0,159 g	t = 3,020	P > 0,01
LPP (400 µg)	1,063 ± 0,225 g	t = 4,884	P > 0,0002

Ergebnis :

1.) Die LPP-Wirkung ist am 10. bzw. 11.Tag gegenüber den Kontrollen viel ausgeprägter als am 14. Tag.

2.) Mit einer Steigerung der Dosis von 200 auf 400 µg läßt sich der Effekt verstärken .

3.) HCH scheint , im Gegensatz zu der beobachteten Reißfestigkeitsverbesserung von Narben , das Wachstum von Granulomen in der gewählten Dosis nicht zu beeinflussen .

dd) Langzeitversuch mit Schwammimplantaten bei Ratten nach lokaler Applikation von 400 µg LPP .

Die Werte finden sich in den folgenden Tabellen 14 - 17 .

Vergleiche dazu auch die Abbildung 4 .

Ergebnis : Es zeigt sich , daß bis zum 5. Tag post im = plantationem kein Wert gegenüber den Kon = trollen hochsignifikant erhöht ist .
Vom 7. - 12. Tag dagegen liegen die Feucht - und Trockengewichtswerte sowie die Reiß = festigkeit eindeutig höher als bei den Kon = trollen . Jenseits des 12. Tages verlieren sich die Gewichtsunterschiede , denn die Kon = trollgranulome holen jetzt die mit LPP im = prägnierten Schwämmchen ein , während die Reißfestigkeit in der behandelten Gruppe weiterhin erhöht bleibt .
(Nach 2 Monaten wurden keine Bestimmungen mehr vorgenommen , denn an der Implantationsstelle waren nur noch winzige Fettklümpchen zu finden.)

Legende zu Abb. 4 : Bis zum 5. Tag liegen die LPP- und Kontrollwerte für Feucht- und Trockengewicht auf gleicher Ebene , danach steigen die LPP - Werte steil an , bis sie am 12. Tag ein Plateau erreichen , bei den Kontrollwerten setzt dieser Anstieg erst gegen Ende der 2. Woche ein. Bei beiden Gruppen findet sich also die typische kurze Aktivitätsperiode zwischen zwei Abschnitten von annähernd linearem Verlauf, wobei die Kontrollkurve gegenüber der LPP-Kurve bei sonst

gleichem Aussehen eine Phasenverschiebung von etwa 6 Tagen aufweist .
Der Verlauf der Reißfestigkeitszunahme läßt sich mit diesem Bild nicht ganz in Einklang bringen ; hier ist der steile Abfall zwischen dem 3. und 5. Tag besonders bemerkenswert .

Tabelle 14 (Ratten)

Zunahme von Reißfestigkeit , Feucht- und Trocken = gewicht (Tag 1 - 5) in Gramm

Tag		Feuchtgewicht ($M \pm \sigma$)	Trockengew. ($M \pm \sigma$)	Reißfestigk. ($M \pm \sigma$)
1	Kontr.	: 0,283 ± 0,068 g	0,056 ± 0,004	698,1 ± 69,1
	LPP	: 0,252 ± 0,038	0,056 ± 0,005	699,4 ± 80,6
		$P < 0,3$	$P > 0,5$	$P > 0,5$
3	Kontr.	: 0,306 ± 0,058	0,057 ± 0,004	820,1 ± 67,6
	LPP	: 0,299 ± 0,059	0,057 ± 0,003	823,6 ± 69,9
		$P > 0,5$	$P > 0,5$	$P > 0,5$
5	Kontr.	: 0,423 ± 0,115	0,059 ± 0,007	615,0 ± 35,2
	LPP	: 0,432 ± 0,061	0,0710± 0,008	613,3 ± 22,5
		$P > 0,5$	$P < 0,05$	$P > 0,5$

Tabelle 15 (Ratten)

Granulomtest am 7. Tag
(Vom 7. Tag an kann man zwischen Kollagenkapsel und Granulomschwamm trennen)

Feuchtgewicht (M ± δ) :			
Gesamtgranulom :	Kontr.	= 0,537 ± 0,107 g	
	LPP	= 0,882 ± 0,272 g	P < 0,02
Schwamm :	Kontr.	= 0,295 ± 0,068 g	
	LPP	= 0,475 ± 0,076 g	P < 0,0021
Kapsel :	Kontr.	= 0,241 ± 0,074 g	
	LPP	= 0,407 ± 0,245 g	P < 0,1
Trockengewicht (M ± δ) :			
Gesamtgranulom :	Kontr.	= 0,0933 ± 0,011 g	
	LPP	= 0,1705 ± 0,170 g	P < 0,01
Schwamm :	Kontr.	= 0,0721 ± 0,004 g	
	LPP	= 0,1088 ± 0,019 g	P < 0,001
Kapsel :	Kontr.	= 0,0195 ± 0,007 g	
	LPP	= 0,0616 ± 0,034 g	P < 0,02
Reißfestigkeit (M ± δ) :			
	Kontr.	= 825,1 ± 26,0 g	
	LPP	= 848,0 ± 21,7 g	P < 0,2

Tabelle 16 (Ratten)

Granulomtest am 10. Tag

Feuchtgewicht (M ± σ) :

Gesamtgranulom	Kontr.	= 0,425 ± 0,053 g	
	LPP	= 0,938 ± 0,302 g	P < 0,0021
Schwamm	Kontr.	= 0,301 ± 0,051 g	
	LPP	= 0,494 ± 0,074 g	P < 0,0005
Kapsel	Kontr.	= 0,126 ± 0,028 g	
	LPP	= 0,427 ± 0,353 g	P < 0,1

Trockengewicht (M ± σ) :

Gesamtgranulom	Kontr.	= 0,1256 ± 0,031 g	
	LPP	= 0,1975 ± 0,040 g	P < 0,002
Schwamm	Kontr.	= 0,0786 ± 0,011 g	
	LPP	= 0,1055 ± 0,011 g	P < 0,001
Kapsel	Kontr.	= 0,0470 ± 0,025 g	
	LPP	= 0,0920 ± 0,041 g	P < 0,05

Reißfestigkeit (M ± σ) :

	Kontr.	= 871,1 ± 29,2 g	
	LPP	= 981,1 ± 52,1 g	P < 0,0021

Tabelle 17 (Ratten)

A) Granulomtest am 12. Tag
B) Reißfestigkeit vom 14. - 21. Tag

A)

Feuchtgewicht (M ± δ) :

Gesamtgranulom	: Kontr.	= 0,498 ± 0,104 g	
	LPP	= 0,831 ± 0,081 g	P < 0,0002
Schwamm	: Kontr.	= 0,392 ± 0,068 g	
	LPP	= 0,452 ± 0,067 g	P < 0,2
Kapsel	: Kontr.	= 0,105 ± 0,043 g	
	LPP	= 0,379 ± 0,107 g	P < 0,0002

Trockengewicht (M ± δ) :

Gesamtgranulom	: Kontr.	= 0,1116 ± 0,021 g	
	LPP	= 0,1873 ± 0,0324 g	P < 0,001
Schwamm	: Kontr.	= 0,0888 ± 0,014 g	
	LPP	= 0,1023 ± 0,006 g	P < 0,1
Kapsel	: Kontr.	= 0,0850 ± 0,008 g	
	LPP	= 0,0850 ± 0,0314 g	P < 0,001

Reißfestigkeit (M ± δ) :

Kontr.	= 1016,0 ± 12,6 g	
LPP	= 1045,8 ± 20,4 g	P < 0,01

- -

B)

14. Tag :	Kontr.	= 1014,1 ± 3,7 g	
	LPP	= 1043,8 ± 16,1 g	P < 0,0021
16. Tag :	Kontr.	= 1012,5 ± 5,2 g	
	LPP	= 1041,6 ± 11,6 g	P < 0,0005
19. Tag :	Kontr.	= 1019,1 ± 8,0 g	
	LPP	= 1057,5 ± 13,3 g	P < 0,0002
21. Tag :	Kontr.	= 1025,8 ± 12,8 g	
	LPP	= 1059,1 ± 12,4 g	P < 0,001

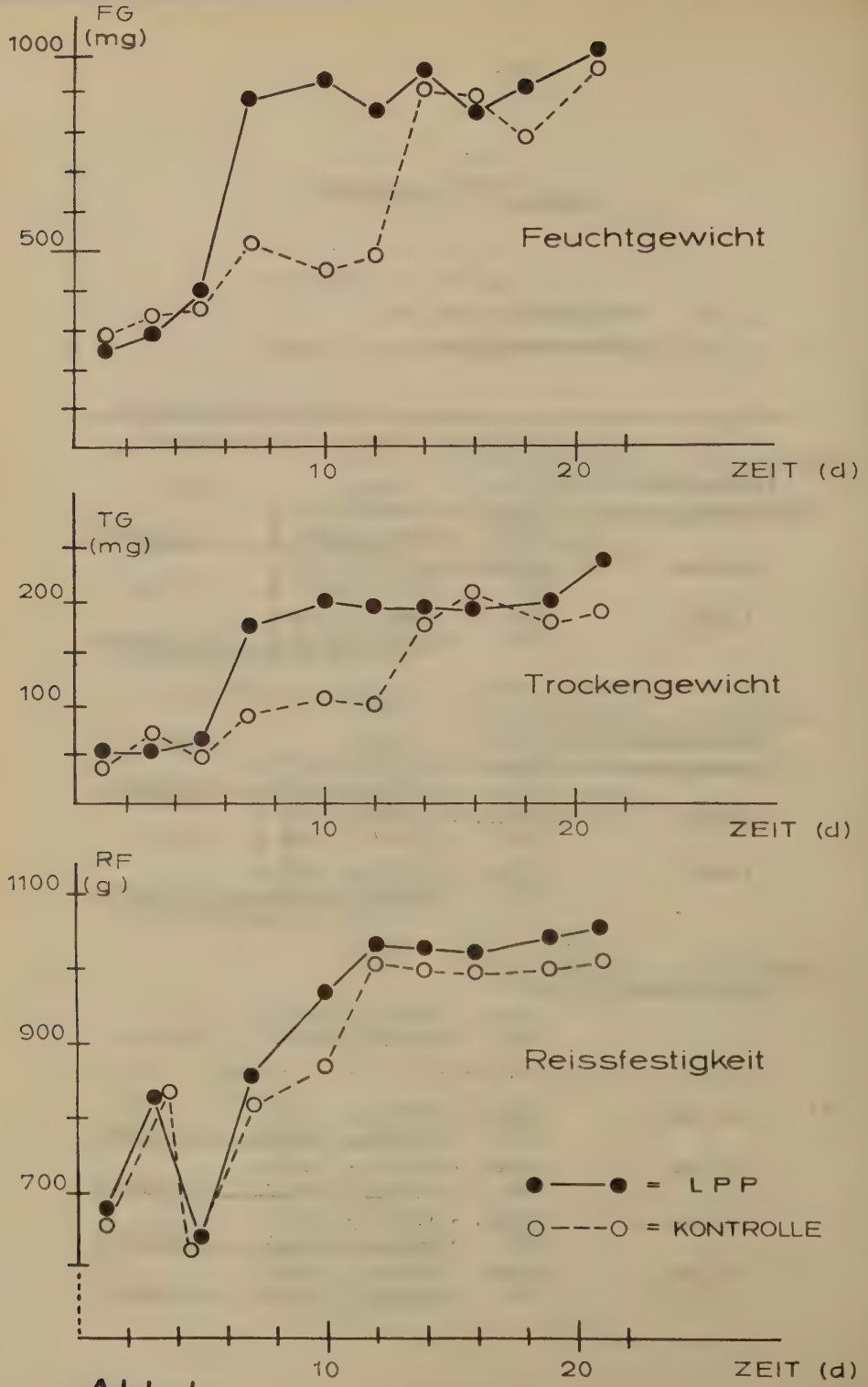

FG
(mg)
1000
500
Feuchtgewicht
10
20
ZEIT (d)
TG
(mg)
200
100
Trockengewicht
10
20
ZEIT (d)
RF
(g)
1100
900
700
Reissfestigkeit
● —— ● = LPP
○ --- ○ = KONTROLLE
10
20
ZEIT (d)

Abb. 4

ee) Vergleichender Granulomtest mit Talkumpuder und verschiedenen LPP-Dosen an Ratten .

Die Werte finden sich in den Tabellen 18 - 20 .

Ergebnis : In der verwendeten Konzentration (400 µg) zeigt Talkum keine Beeinflussung der Granulationsbildung . Die Zusammenstellung erlaubt weiterhin eine Beurteilung der Dosis - Wirkungs - Beziehung am 10.Tag . 400 µg LPP ergeben einen optimalen Effekt . Durch Steigerung der Dosis (getestet bis zum Vierfachen !) läßt sich gegenüber der Gruppe , die 400 µg erhielt , keine signifikante Verbesserung der Wundheilung erzielen .

Tabelle 18 (Ratten)

Feucht- und Trockengewicht von Schwammgranulomen am 10.Tag

	Feuchtgewicht (M ± σ) in mg	Trockengewicht (M ± σ) mg
Kontrollen :	595,7 ± 126,5	99,1 ± 15,4
Talkum :	623,2 ± 104,4	111,6 ± 22,0
400 µg LPP :	806,5 ± 135,0	138,0 ± 21,9
800 µg LPP :	914,2 ± 178,2	131,3 ± 15,6
1600 µg LPP :	832,9 ± 93,4	133,8 ± 13,8

Tabelle 19 (Ratten)

Granulomfeuchtgewicht am 10. Tag
(Signifikanzwerte aller fünf Gruppen zum Vergleich gegeneinander aufgetragen)

	Kontr.	Talkum	400 µg	800 µg	1600 µg LPP
Kontr. :	-	0,5	0,0002	0,0002	0,0002
Talkum :	0,5	-	0,0002	0,0002	0,0002
400 µg :	0,0002	0,0002	-	0,05	0,5
800 µg :	0,0002	0,0002	0,05	-	0,1
1600 µg :	0,0002	0,0002	0,5	0,1	-

Tabelle 20 (Ratten)

Granulomtrockengewicht am 10. Tag
(Signifikanzwerte aller fünf Gruppen zum Vergleich gegeneinander aufgetragen)

	Kontr.	Talkum	400 µg	800 µg	1600 µg LPP
Kontr. :	-	0,1	0,0002	0,0005	0,0002
Talkum :	0,1	-	0,005	0,005	0,0021
400 µg :	0,0002	0,005	-	0,5	0,5
800 µg :	0,0005	0,005	0,5	-	0,5
1600 µg :	0,0002	0,0021	0,5	0,5	-

c) Wundheilungsindex K

Bezieht man die K-Werte auf den ersten Tag nach der Implantation , so ergibt sich folgendes Bild :

Kontrollen (g/Tag)	Zeit (Tag p. OP)	LPP (g/Tag)
61,0	1. - 3.	62,1
- 20,7	1. - 5.	- 21,5
21,1	1. - 7.	24,7
19,2	1. - 10.	31,3
28,9	1. - 12.	31,4
24,3	1. - 14.	26,4
20,9	1. - 16.	22,8
17,8	1. - 19.	19,8
16,3	1. - 21.	17,9

Die Zeit um den 10. Tag ist also auch in dieser Beziehung für die heilungsfördernde Wirkung des LPP am günstigsten . Die negativen K-Werte entsprechen dem Reißfestigkeits - abfall am 5. Tag .

d) Kollagengehalt im Granulom nach 10 Tagen

Für 7 Kontrollschwämmchen ergab sich bei Doppelbestimmung
$M \pm \sigma$ = 442,1 µg Kollagen/8 ml Homogenat $\pm$ 131,0µg

400 µg LPP (n=9) : M = 1132,3 $\pm$ 418,2 µg Kollagen/8 ml
t = 4,665
P $\leq$ 0,0005

1600 µg LPP (n=6) : M = 1425,9 $\pm$ 331,0 µg Kollagen/8 ml
t = 5,308
P $<$ 0,0002

Da sich die Werte der beiden behandelten Gruppen nicht signifikant voneinander unterschieden (P 0,2) , ist ein gemeinsamer Mittelwert gebildet worden . Dann ergibt sich im Vergleich zu den Kontrollen : t = 7,028

P < 0,0002

Am 10. Tag ist der Kollagengehalt in behandelten Schwämmchen also signifikant höher als in unbehandelten .

e) Nukleinsäurengehalt im Granulom nach 10 Tagen

DNA (M + σ)

Kontr. :	393,3 µg/8 ml	±	66,3 µg	
400 µg LPP:	1103,2 "	±	722,9 µg	P<0,01
1600 µg LPP:	1342,0 "	±	433,4 µg	P<0,0002

Auch hier war der Unterschied zwischen den behandelten Gruppen nicht signifikant (P 0,5) , weshalb ein gemeinsamer Mittelwert gebildet und mit dem Kontrollwert verglichen wurde . Es ergibt sich : t = 4,996

P < 0,0002

RNA (M + σ)

Kontr. :	375,4 µg/8 ml	±	249,2 µg	
400 µg LPP:	766,3 "	±	317,8 µg	P<0,02
1600 µg LPP:	1387,1 "	±	259,2 µg	P<0,0002

Hier ergab sich zwischen den beiden behandelten Gruppen ein signifikanter Unterschied (P < 0,02) .

f) Elektronenoptische Untersuchung von Granulomen am 10. Tag

Vergleiche dazu die Abbildungen 5 - 8

Ergebnis : I) Zellen

Am 10. Tag finden sich in Schwämmchen der behandelten Gruppe vorwiegend Fibro - blasten , zu identifizieren an der bi - polaren Form und dem ausgeprägten Endoplasmatischen Retikulum sowie am Phänomen der "marginalen Kondensation" frisch synthetisierter Kollagenfila - mente . Im Kontrollgewebe dagegen wird das Feld weitgehend noch von den Histio - zyten , erkennbar an den zahlreichen Fortsätzen , Einschlußkörpern und Vakuolen , beherrscht . Fibroblasten sind hier noch kaum anzutreffen .

II) Extrazellulärraum

Die unbehandelte Kontrolle enthält hier fast ausschließlich Fibrinmassen und feingranulär ausgefallenes Eiweiß . Kollagenfibrillen kommen erst in geringer Zahl und ungeordnet vor . Die Granulome der behandelten Gruppe enthalten fast keine Fibrinniederschläge mehr , statt - dessen sind die Interzellulärräume von gebündelten kollagenen Fibrillen ausge - füllt .

Legende zu den Abbildungen 5 & 6

Abb. 5 : Übersichtsaufnahme eines Granuloms nach Behandlung mit LPP . Schwammbalken hier nicht sichtbar . Die Zellpopulation besteht weitgehend aus Fibroblasten (F) . Vereinzelte Histiozyten (H) . Fibroblasten mit ausgeprägtem rauhem Ergastoplasma . Zwischen den Zellen vorwiegend im Querschnitt kollagene Fibrillen , bereits in gebündelter Anordnung . Die Pfeile zeigen quergetroffene Fibrillen .
Vergr. 1 : 7000

Abb. 6 : Fibroblast im LPP-Granulom . Bei x erweiterte Hohlräume des rauhen EPR , ein großer Golgi - Apparat (G) . Auf der Zellmembran feinfilamentäres Material (Pfeile) als Zeichen der marginalen Kondensation . Beginn der Fibrillenbündelung in einiger Entfernung von der Zelle . Bei H ein Histiozyt mit typischer Oberflächenvergrößerung durch Fortsatzbildung und dunklen Granula .
Vergr. 1 : 35000

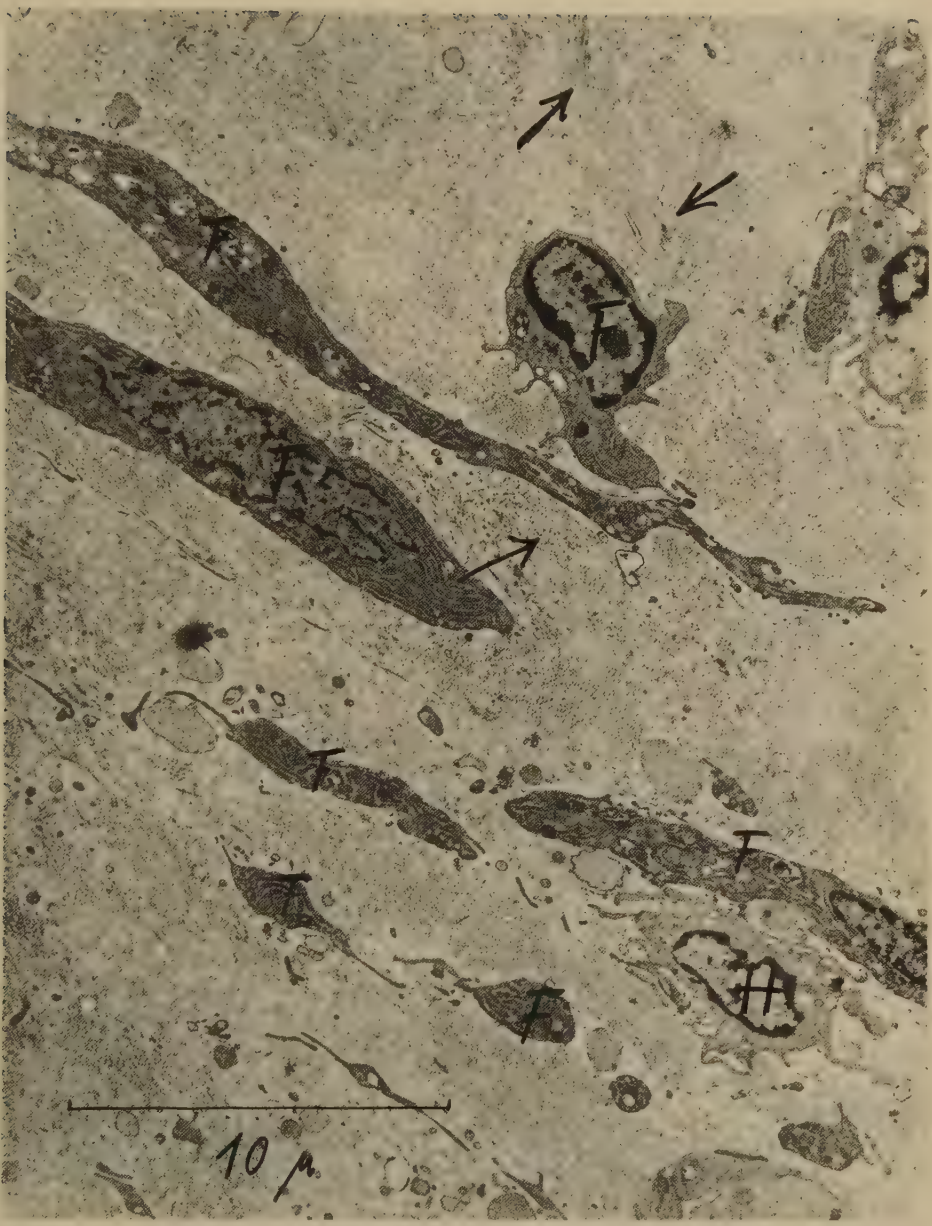


Abb. 5

Abb. 6

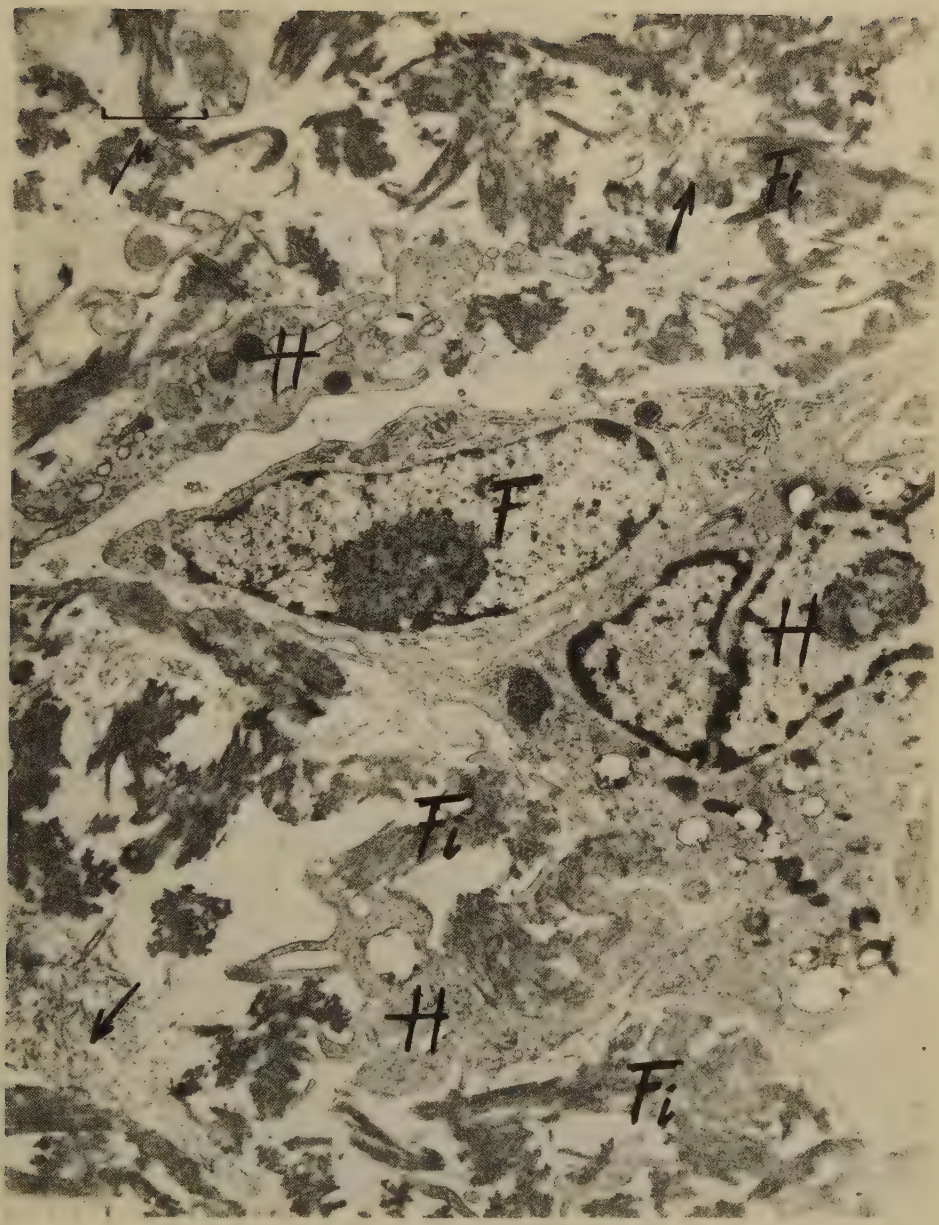


Abb. 7

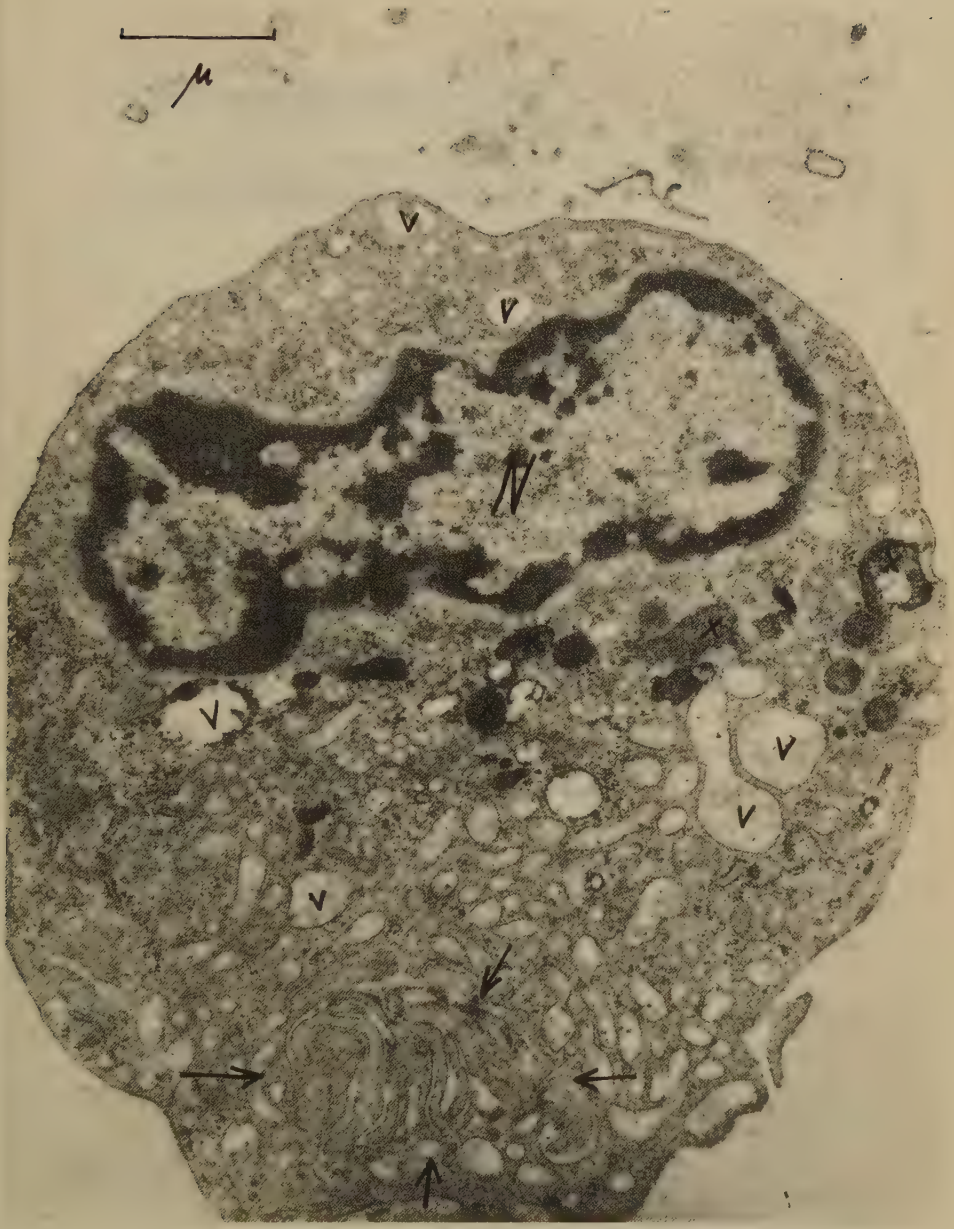


Abb. 8

Legende zu den Abbildungen 7 & 8

Abb. 7 : Übersichtsbild einer Kontrolle . Histio = zyten (H) überwiegen , nur einzelne junge Fibroblasten (F) sichtbar . Dazwischen noch Massen von Fibrin (Fi) , an anderer Stelle noch ausgefälltes Erguß-Eiweiß . Wenig kollagene Fibrillen sichtbar (Pfeil) . Vergr. 1 : 8500

Abb. 8 : Histiozyt aus unbehandeltem Granulom mit zahlreichen Vakuolen (v) und Granula (x) sowie Hohlräumen des rauhen EPR . Die Pfeile weisen auf einen Tangentialschnitt durch Fortsatzbildungen an der Oberfläche . N = Nukleus . Oberhalb der Zelle noch aus = gefällte Eiweißmassen . Vergr. 1 : 28000

4) Versuche an Fibroblastenkulturen

Die Werte des ersten Versuchs mit 10 bzw. 30 µg LPP/ml sind der Tabelle 21 zu entnehmen .

Ergebnis : Nach Zusatz von 10 bzw. 30 µg LPP/ml Wachstumsmedium war die Mitoserate gegenüber der Kontrollkultur nicht sichtbar erhöht .

Die hohe Dosierung (14 µg LPP/10 ml Wachstumsmedium) schien dagegen das Fibroblastenwachstum eher zu hemmen .
Eine Untersuchung des Kollagengehalts im Medium ergab dann auch einen deutlich verringerten Wert gegenüber den Kontrollen :

$(M \pm \sigma)$:
Kontr. = 177,2 µg Kollagen/10 ml ± 14,7
LPP = 46,8 µg " " ± 22,1

$t = 6{,}947$

$P = 0{,}0002$

Legende zu Tab. 21 : Der Mitotische Koeffizient (= Mitosen pro 1000 Zellen) wurde an 3 x 1000 Zellen bestimmt . Die Mitosephasen wurden an 3 x 50 Mitosen prozentual verteilt ausgezählt .

A = Mitotischer Koeffizient
B = Mitotischer Koeffizient , Mittelwert
C = Prophase
D = Metaphase
E = Anaphase
F = Telophase
G = Rekonstruktionsphase
H = Mitosephasen in gleicher Reihenfolge , Mittelwerte

Tabelle 21 (Fibroblastenkultur)

Bestimmung der Mitoserate von Fibro = blasten in Petrischalen-Monolayer = kultur nach Zusatz zweier LPP-Dosen

	A	B	C	D	E	F	G	H				
Kontr.	5		16	36	10	14	24					
	4	5,3	20	30	12	14	24	16	33	13	13	25
	7		12	32	16	12	28					
LPP (10 µg/ml)	6		22	28	14	10	26					
	5	6,0	16	38	10	10	26	17	33	13	10	27
	7		14	34	14	10	28					
LPP (30 µg/ml)	6		18	32	14	14	22					
	6	5,6	18	38	8	12	24	18	35	11	13	23
	5		18	36	10	12	24					

5) Heilung unter Spezialbedingungen

a) bei epinephrektomierten Ratten

aa) Ergebnis : Statistisch waren zwar die Wunden nach der Applikation des LPP bei den Normal = tieren gegenüber den Kontrollwunden signifikant eher verheilt , bei den epi = nephrektomierten Tieren dagegen war das Ergebnis nicht so überzeugend . Der Ver = such wurde wiederholt .

bb) Vergleiche dazu Tabelle 22 und Abbildung 9 .

Ergebnis : Diesmal heilten die LPP-behandelten Wunden auch dann signifikant schneller , wenn die Tiere epinephrektomiert waren . Zwischen dem 8. und 10. Tag lagen die P-Werte unter 0,0002 . Bei den normalen Tieren wurde der LPP-Effekt erst am 10. Tag , also mit zweitägiger Verspätung , statist = isch hochsignifikant .
Wenn dieser Effekt im vorigen Versuch nicht so deutlich war , mag dies an der geringeren Tierzahl (2 der operierten Tiere aus 5 a. aa) konnten nicht verwertet werden , weil sie die Umsetzung auf normales Trink = wasser anstandslos überlebten) gelegen haben .

Legende zu Abb. 9 : Auch hier sind wieder die stufen = förmigen Kurven zu erkennen , wobei die charakteristische Abknickung bei den epinephrektomierten Tieren markanter in Erscheinung tritt als bei den Normaltieren.

Tabelle 22 (Ratten)

Heilungsverlauf bei epinephrektomierten und normalen Ratten im Stanzwundentest nach lokaler Applikation von 400 µg LPP

Gewicht der Wundsilhouette in mg
(M ± σ)

Tag	epinephrektomierte Tiere	Normaltiere
1	Kontr. : 3,373 ± 0,159	3,336 ± 0,120
	LPP : 3,564 ± 0,167	3,433 ± 0,119
	t = 2,986	t = 1,903
	P < 0,01	P < 0,2
2	Kontr. : 3,323 ± 0,114	3,255 ± 0,159
	LPP : 3,418 ± 0,172	3,317 ± 0,119
	t = 1,659	t = 2,060
	P = 0,2	P = 0,1
3	Kontr. : 3,166 ± 0,199	3,199 ± 0,148
	LPP : 3,165 ± 0,189	3,191 ± 0,117
	t = 0,013	t = 1,075
	P > 0,5	P < 0,4
6	Kontr. : 1,940 ± 0,389	2,859 ± 0,226
	LPP : 1,538 ± 0,451	2,671 ± 0,347
	t = 2,433	t = 1,505
	P < 0,05	P < 0,2
7	Kontr. : 1,796 ± 0,389	2,675 ± 0,256
	LPP : 1,435 ± 0,459	2,440 ± 0,357
	t = 2,163	t = 1,774
	P < 0,1	P < 0,2

Tabelle 22 (Fortsetzung)

Tag		epinephrektomierte Tiere	Normaltiere
8	Kontr. :	1,220 ± 0,231	2,284 ± 0,309
	LPP :	0,636 ± 0,318	1,907 ± 0,267
	t = 5,357		t = 3,061
	P < 0,0002		P < 0,01
9	Kontr. :	1,030 ± 0,143	2,010 ± 0,380
	LPP :	0,231 ± 0,298	1,589 ± 0,356
	t = 8,715		t = 2,681
	P < 0,0002		P < 0,05
10	Kontr. :	0,581 ± 0,300	1,576 ± 0,269
	LPP :	0,030 ± 0,108	1,128 ± 0,180
	t = 6,230		t = 4,590
	P < 0,0002		P < 0,0005
11	Kontr. :	0,143 ± 0,237	1,319 ± 0,234
	LPP :	0,000 ± 0,000	0,874 ± 0,270
	t = 2,175		t = 4,130
	P < 0,1		P < 0,001
13	Kontr. :	0,000 ± 0,000	1,052 ± 0,198
	LPP :	0,000 ± 0,000	0,279 ± 0,326
	t = 0		t = 6,721
	P = 1		P < 0,0002
14	Kontr. :	---	0,730 ± 0,286
	LPP :	---	0,000 ± 0,000
			t = 8,465
			P < 0,0002
15	Kontr. :	---	0,037 ± 0,123
	LPP :	---	0,000 ± 0,000
			t = 0,997
			P < 0,3

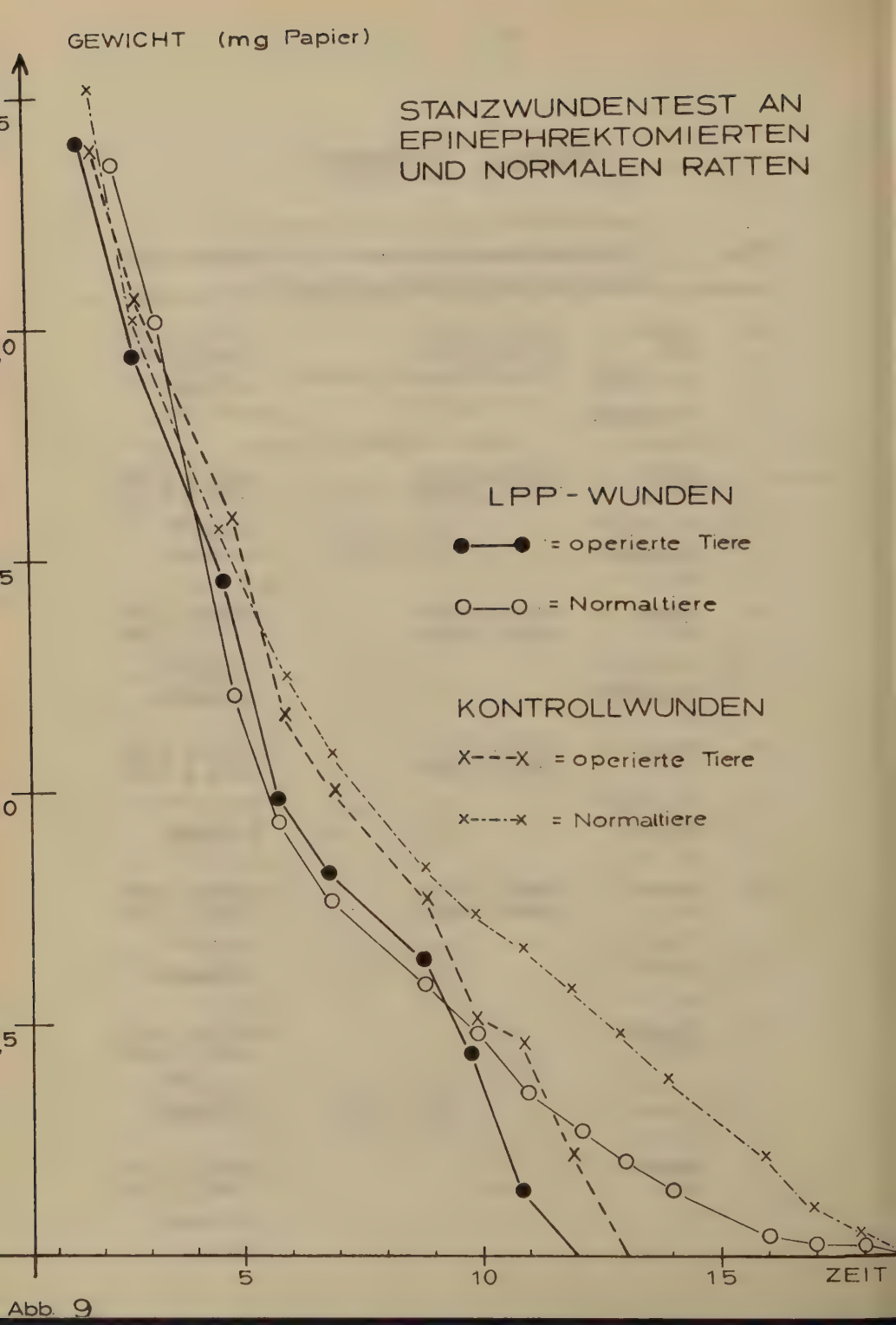

GEWICHT (mg Papier)
STANZWUNDENTEST AN EPINEPHREKTOMIERTEN UND NORMALEN RATTEN
LPP - WUNDEN
●——● = operierte Tiere
O—O = Normaltiere
KONTROLLWUNDEN
X---X = operierte Tiere
x-·-·-x = Normaltiere
5
10
15
ZEIT

Abb. 9

b) bei Tieren mit Zweitwunden
(siehe Tabelle 23)

Tabelle 23 (Ratten)

Mittlere Heilungsdauer (M ± δ) in Tagen nach Setzung von Zweitwunden in verschiedenen Intervallen

		Gruppe I (einmalige Wundsetzung)	
	Kontr.	14 ± 2	
	LPP	11 ± 2	
Gruppe II (Zweitwunde nach 1/2 Tag)			**Gruppe III** (1 Tag)
Erstwunde	Kontr.	14 ± 1	15 ± 1
	LPP	11 ± 2	13 ± 2
Zweitwunde	Kontr.	15 ± 1	15 ± 0,5
	LPP	11 ± 2	13 ± 1,5
Gruppe IV (Zweitwunde nach 2 Tagen)			**Gruppe V** (n. 3 Tagen)
Erstwunde	Kontr.	14 ± 2	14 ± 2
	LPP	11 ± 2	11 ± 2
Zweitwunde	Kontr.	15 ± 1	15 ± 1
	LPP	12 ± 1	12 ± 2
Gruppe VI (Zweitwunde nach 4 Tagen)			**Gruppe VII** (n. 7 Tagen)
Erstwunde	Kontr.	14 ± 1,5	14 ± 1
	LPP	11 ± 2	11 ± 2
Zweitwunde	Kontr.	12 ± 1	13 ± 2
	LPP	10 ± 2	10 ± 2

Ergebnis : Bei den untersuchten Wundsetzungsintervallen bleibt die durch LPP (400 µg) verkürzte Heilungsphase demnach unbeeinflußt .

6) Verteilungsstudien

a) Nach der Bestimmung des Internen Standards befanden sich in den 0,2 ml LPP-Suspension , die den beiden Ratten lokal appliziert wurde , 88425,0 dpm .
Davon wurden nach 24 h wiedergefunden :
in der Exzisionswunde : 11044,0 dpm
im 24 h-Urin des Tieres : 4286,0 dpm

in der Inzisionswunde : 20712,0 dpm
im 24 h-Urin des Tieres : 8456,0 dpm

Demnach konnten bei dem Tier mit der Exzisionswunde nach 24 h nur noch etwa 15 % der applizierten Aktivität im Wundgebiet und im Urin nachgewiesen werden , bei dem Tier mit der Inzisionswunde etwa 30 % .

b) In dieser Versuchsreihe war der "quenching"-Effekt so gering , daß auf die Bestimmung des Internen Standards verzichtet werden konnte , die Angaben erfolgen deshalb in cpm .
Applizierte radioaktive Dosis pro Tier : 76000,0 cpm .
Die Werte sind in Tabelle 24 zusammengestellt .

Ergebnis : Bei den Tieren mit Exzisionswunde wurden in Haut , Leber und 24 h-Urin etwa 25 % der Gesamtaktivität am nächsten Tag wiedergefunden , bei den Tieren mit Inzisionswunden etwa 55 % . Der C 14-Gehalt im CO_2 der Ausatmungsluft betrug weniger als 0,1 % der eingesetzten Aktivität .

Tabelle 24 (Ratten)

Radioaktivität in Hautwunde , Leber ,
24 h-Urin und Ausatmungs-CO_2 am Tag
nach der lokalen Applikation von
76000 cpm

	Exzisionswunden		Inzisionswunden	
	Tier A	Tier B	Tier A	Tier B
Haut :	7950,0 cpm	97500,0 cpm	20620,0 cpm	21315,0 cpm
Leber :	6298,0 cpm	6020,0 cpm	6182,0 cpm	7566,0 cpm
Urin :	4421,0 cpm	4985,0 cpm	12517,0 cpm	12866,0 cpm
CO_2 :				
NaOH	34,0 cpm	53,0 cpm	42,0 cpm	43,0 cpm
Äthanolamin	44,0 cpm	48,0 cpm	51,0 cpm	50,0 cpm

7) Verträglichkeit

a) Toxizität

aa) Nach Applikation des LPP traten folgende Todesfälle auf :

60 min p.i. :	1	Tier	nach	Gabe	von	50 µg	LPP
120 min p.i. :	1	"	"	"	"	1000 µg	LPP
150 min p.i. :	1	"	"	"	"	500 µg	LPP
	---						
2. Tag p.i.:	1	"	"	"	"	1000 µg	LPP
4. Tag p.i.:	1	"	"	"	"	25 µg	LPP
12. Tag p.i.:	1	"	"	"	"	100 µg	LPP
	1	Kontrolltier (!)					
13. Tag p.i.:	1	Tier	nach	Gabe	von	50 µg	LPP
14. Tag p.i.:	1	"	"	"	"	25 µg	LPP
	1	"	"	"	"	100 µg	LPP
15. Tag p.i.:	1	"	"	"	"	500 µg	LPP

also :

5 µg	LPP-Gruppe	(n=5)	0	Todesfälle
25 µg	"	" (n=2)	2	"
50 µg	"	" (n=3)	2	"
100 µg	"	" (n=3)	2	"
500 µg	"	" (n=3)	2	"
1000 g	"	" (n=2)	2	"

bb) Chronischer i.v.-Toxizitätstest an SPF-Ratten mit einer Dosis von 100 µg LPP/Tier .
Das Ergebnis stand in Gegensatz zu dem des vorigen Ver - suches . Diesmal starben von 25 behandelten Tieren nur 3 , davon eines am Tag nach der Injektion , die beiden andern am 3. Tag . Anschließend wurden die Tiere auf Späterscheinungen beobachtet , doch zeigten sie völlig normales Verhalten und überlebten die Injektion um mehr als 4 Monate .

b) Pyrogenität

aa) siehe Abbildung 10

bb) siehe Abbildung 11

Ergebnis : Die typische zweigipflige Kurve des "Endotoxin"-Fiebers ist bei den Ratten deutlicher ausgebildet als bei den Kaninchen . Der pyrogene Effekt tritt schon bei kleinsten Dosen (5 µg/Tier) ein und läßt sich auch durch erhebliche Dosissteigerung kaum verstärken .

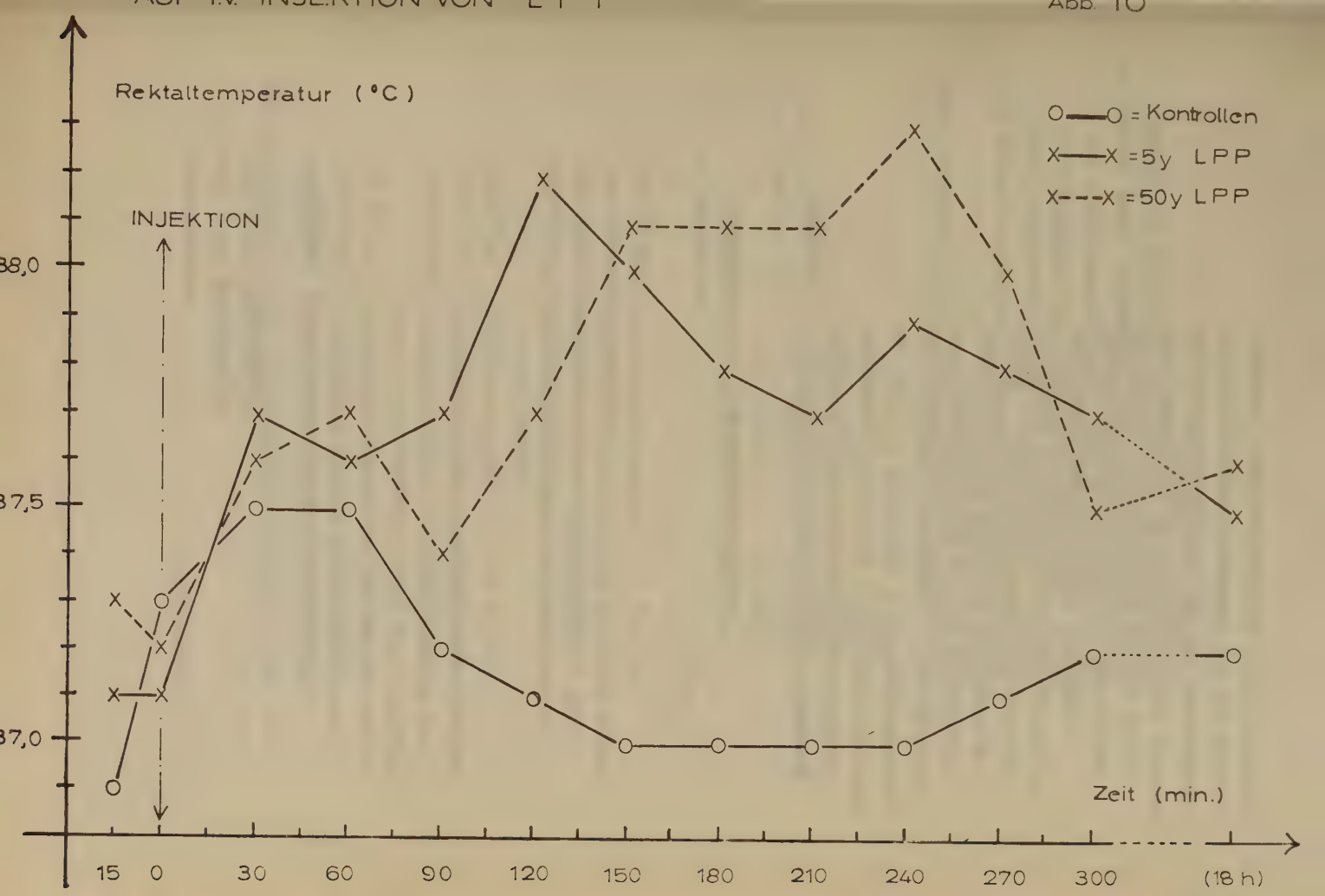
cc) Die drei Kaninchen reagierten auf jede weitere LPP-Injektion mit erneutem Fieberanstieg , doch war der Verlauf der Reaktion schon am 2. Tag kürzer als nach der Erstinjektion .

c) Antigenität

Vergleiche dazu die Tabellen 25 und 26 .

aa, bb)

Ergebnis : Die Sensibilisierungsinjektionen erzeugten entzündliche Quaddeln mit einem mittleren Durchmesser von 0,3 cm . Pseudopodienbildung war nicht zu beobachten . Einige Injektionsstellen wurden nekrotisch . Verglichen mit Erstlingsinjektionen war die Entzündungsreaktion bei der Auslösung wesentlich geringer . Im histologischen Bild wurde vor allem nach der eosinophilen Zellbarriere an der Korium-Subkutis-Grenze gefahndet . Tatsächlich zeigten sich dort des öfteren Infiltrate , doch handelte es sich dabei fast ausschließlich um granulozytäre Elemente. Bei den Meerschweinchen war die Spätreaktion sichtlich stärker ausgeprägt als die Sofortreaktion , bei den Kaninchen war es umgekehrt.


Rektaltemperatur (°C)
O—O = Kontrollen
X—X = 5y LPP
X---X = 50y LPP
INJEKTION
38,0
37,5
37,0
Zeit (min.)
15
0
30
60
90
120
150
180
210
240
270
300
(18 h)

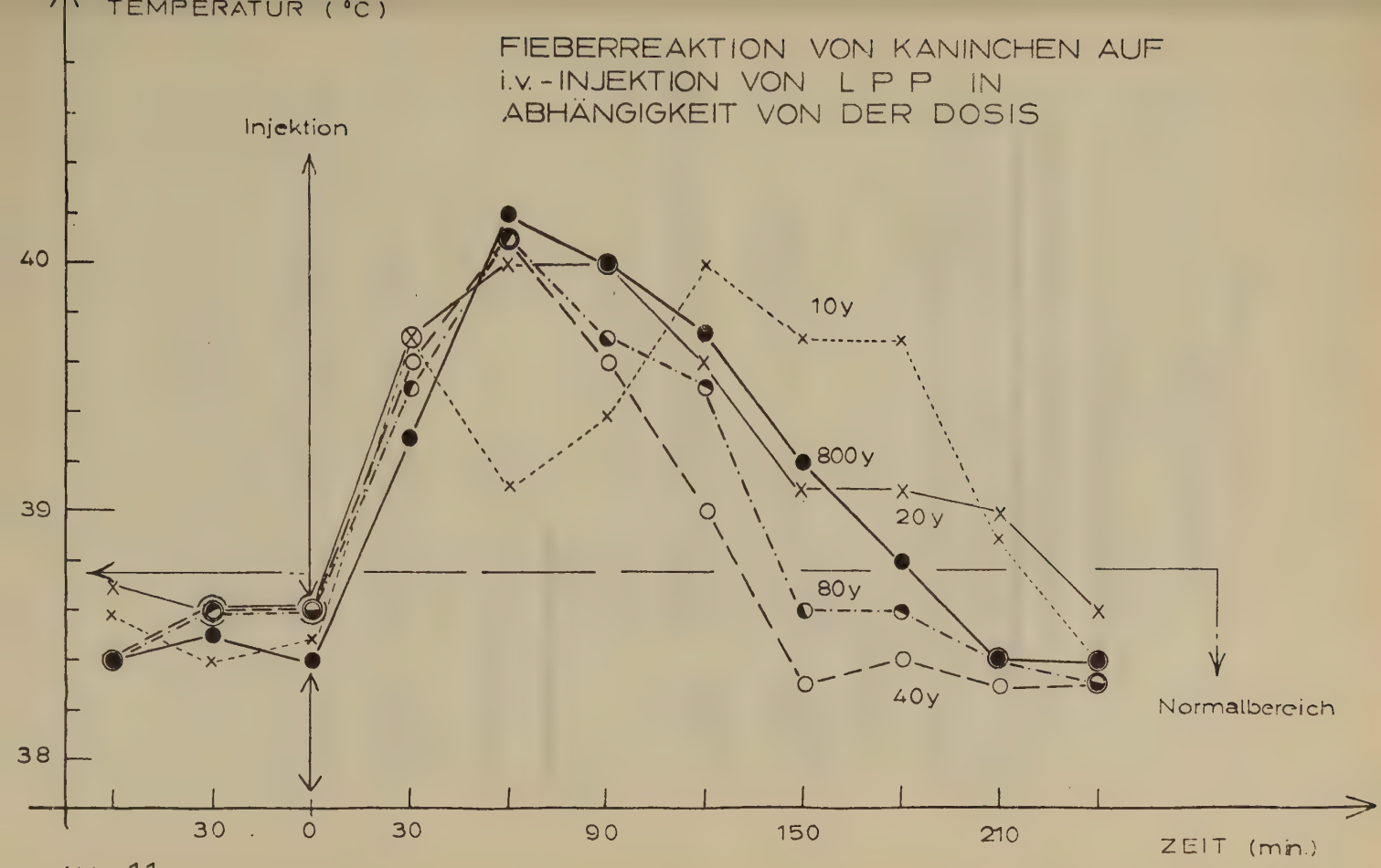

TEMPERATUR (°C)
FIEBERREAKTION VON KANINCHEN AUF
i.v.-INJEKTION VON L P P IN
ABHÄNGIGKEIT VON DER DOSIS
Injektion
40
39
38
10y
800y
20y
80y
40y
Normalbereich
30
0
30
90
150
210
ZEIT (min.)

Abb. 11

Tabelle 25 (Kaninchen)

Sensibilisierungsversuche

Die relativen Intensitätsgrade der granulozytären Infiltration sind mit +, ++ etc. gekennzeichnet

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6
Sensibilisierungs-modus :	an 4 Tagen jeweils 4 0 µg LPP i.c.					
Auslösungs-modus :	nach 20 Tagen	a) 10 Tg. n. b) 20 Tg. 10 Tg.		a) 10 Tg. n. b) 20 Tg. 10 Tg.		n. 20 Tg.
Mikroskopischer Befund :						
Kontrolle (NaCl)	ø	a) - b) +	-	a) - b) +	-	+
0,1 % LPP	+++	a) +++ b) +++	++	a) +++ b) +++	+++	++
1,0 % LPP	++	a) +++ b) ++	++	a) +++ b) +++	+++	+++

Tabelle 26 (Meerschweinchen)

Sensibilisierungsversuche

Die relativen Intensitätsgrade der granulozytären Infiltration sind mit +, ++ etc. gekennzeichnet

Tier Nr.	Sensibil. modus	Auslösg. modus	Mikroskop. Befund 0,1% LPP	1,0% LPP
1	an 4 Tagen je 40 µg i.c.	nach 20 Tgn	3 h: +	++
			24 h: +	+++
2	"	"	3 h: Ø	+
			24 h: +	+++
3	"	"	3 h: +	Ø
			24 h: +	+++
4	"	"	3 h: Ø	+
			24 h: ++	++
5	"	"	24 h: ++	
		nach 40 Tgn	24 h: +	
6	"	" 20 "	3 h: Ø	
		" 40 "	24 h: +	
7	"	" 20 "	3 h: +	
			24 h: ++	
8	"	" 20 "	3 h: +	
			24 h: ++	
9	ohne Sensibil.		3 h: Ø	+
			24 h: +	+++
10	" "		3 h: Ø	Ø
			24 h: Ø	+++

D I S K U S S I O N

Der biologisch wirksame Anteil der sogenannten "Endotoxine" gramnegativer Bakterien besteht aus Lipopolysacchariden (164) mit - je nach Reinigungsgrad - wechselnden Proteinanteilen . Morphologisch stellt sich die LPP-Struktur als trilaminäres , homogen gefärbtes Band dar , als dessen bestimmende Komponente der Lipid-Teil identifiziert werden konnte (184,189) . Die Funktionen beider Bestandteile sind unterschiedlicher Natur ; man macht die Polysaccharide für antigene Wirkungen verant = wortlich ,(164,194,195) , während der Lipidkomplex den Toxi = zitätsgrad des LPP bestimmt (164,172,183,194,204) .

Zu den markantesten Effekten der LPP zählt die Kreislaufbe = einträchtigung , die von leichten Störungen der Mikrozirkulati= on (191,192) bis zum schweren Schock reichen kann (172,184,188, 190) . Die bekannte pyrogene Wirksamkeit ist therapeutisch und auch diagnostisch verwertbar ; bakterielles LPP erhöht nämlich über eine ACTH-Stimulierung die Konzentration der Porter-Silber-Chromogene und kann so die Funktionsfähigkeit des Regelkreises zwischen Hypophyse und Nebennierenrinde nach = weisen (173 - 175) .

Wenn also bakterielle LPP die zur schnellen Heilung unerläßliche lokale Zirkulation beeinträchtigen und auf dem Weg über die Adenohypophyse die heilungsverzögernden 17-Hydroxycorticoide ansteigen lassen , so müssen Berichte über Wundheilungs = stimulierungen mit diesen Substanzen sehr überraschen . Das gilt in besonderem Maße für Pseudomonas aeruginosa , weil dieser Keim zu häßlichen Wundkomplikationen führen kann (193) .

In der vorliegenden Untersuchung ist die Steigerung der Narben = festigkeit durch den Pseudomonas-Stamm 14885 a zu wiederholten Malen reproduziert worden . Die recht grob anmutende Methodik ist im getesteten Bereich wohl ausreichend genau , wenn man die Mittelwerte aller Kontrollkollektive (mehrere 100 Tiere) vergleicht . Bis heute herrscht Uneinigkeit über die Frage , welche biologischen Parameter am Phänomen der Reißfestigkeit beteiligt sind . Der naheliegende Gedanke , die Stabilität reparativen Gewebes als eine Funktion des Kollagengehalts in dem betroffenen Gebiet anzusehen , ist in dieser Form wohl zu simpel (56) . VILJANTO , ISOMÄKI und KULONEN (65) haben beispielsweise an mit Aminoazetonitril behandelten Tieren nachgewiesen , daß die Hydroxyprolinproduktion im Granulationsgewebe weitgehend unbeeinflußt blieb , während die Reißfestigkeit sich deutlich verschlechterte ; allerdings dürfte das Kollagen hierbei eine Strukturveränderung erlitten haben . FREIHOFFER et al. konnten an LPP-behandelten Inzisionswunden trotz steigenden Kollagengehaltes keine Reißfestigkeitsverbesserung registrieren (74) . Gegen die ausschließliche Abhängigkeit der Reißfestigkeit vom Kollagengehalt spricht ja allein schon die Beobachtung , daß jenseits des 45. Tages die Reißfestigkeit über Monate hinweg weiter ansteigt , während die Kollagenproduktion längst ein Plateau erreicht hat (16) . Zweifellos spielen bei diesem Vorgang intramolekulare "cross-links" und auch interfibrilläre Kohäsionskräfte eine Rolle (16,177) .

Die unter 3b) geschilderten Reißfestigkeitsversuche am Granulom weichen von VILJANTOs klassischer Methodik (3) aus technischen Gründen ab . Er hatte seinen Versuchstieren zusammengenähte Schwämme implantiert , bei der Aufarbeitung dann die Fäden entfernt und den Zusammenhalt beider Schwammteile getestet . Die von mir benutzten Schwämmchen sind für diesen Zweck offenbar zu großporig , denn während der untersuchten Zeiträume war keine belastbare Kohäsion feststellbar . Deshalb wurden die Schwämm =

chen einzeln tensiometrisch beurteilt . Da die Ergebnisse durchaus denen von VILJANTO entsprechen , ist wohl auch dieses vereinfachte Verfahren statthaft .

Zum Zeitpunkt des auffälligsten Reißfestigkeitsunterschiedes zwischen behandelten Tieren und Kontrollen , nämlich am 10. Tag , liegen sowohl die Kollagenrate als auch die DNA-, RNA-Konzentrationen bei den behandelten Ratten deutlich höher . Das spräche im Prinzip sicher für eine entscheidende Mit = wirkung des Kollagens , wenigstens in diesem Zeitraum . Ob sich diese Relation im weiteren Heilungsverlauf verschiebt , bliebe zu untersuchen . Andererseits darf man wohl eine Be = ziehung zwischen Granulomgewicht und Kollagengehalt annehmen ; nun ist aber jenseits des 14. Tages die Reißfestigkeit der LPP-Granulome noch signifikant höher als die der Kontrollen , während die unterschiedlichen Gewichtsgrößen sich schon ange = glichen haben . Eigenartig war die Beobachtung , daß zwischen den Reißfestigkeitswerten des 3. und 7. Tages , die annähernd auf gleicher Ebene lagen , ein markanter Abfall des Kurven = verlaufs eintrat ; möglicherweise könnten hier lytische Pro = zesse zu einer passageren Strukturlockerung im Innern des Schwämmchens geführt haben .

Eine andere Erklärung für die regenerationsfördernde Wirkung bakterieller Lipopolysaccharide könnte in der Entzündungs = stimulierung durch Labilisierung der Lysosomenmembran zu suchen sein . Die lokalisierte "Endotoxin"-Entzündung ist ja von HEILMEYER et al. (178-182) in Form des "Pyrexal-Tests" zu einem diagnostischen Hilfsmittel verwertet worden . Doch hat man verschiedentlich davor gewarnt , die Entzündung und die Wund = heilung für untrennbare Begriffe zu halten (42) . Proinflam = matorische Pharmaka können die Reparationsbemühungen durchaus beeinträchtigen , zB. Carrageenin , antiinflammatorische sie fördern , zB. Oxyphenbutazon (116) .

Es ist zwar bekannt , daß LPP analog zur ACTH-Stimulierung auch eine STH-Ausschüttung provozieren kann (176) , doch sind die Ansichten über die Heilungsbeeinflussung durch Wachstums = hormon durchaus gegensätzlich (42,109) . Den indirekten granulationsfördernden Effekt über dieses Hormon wird man wohl nicht näher zu diskutieren brauchen . Daß die LPP-Wirkung auf die Wundheilung vom ACTH-NNR-System unabhängig ist , zeigen die Versuche mit epinephrektomierten Ratten .
Einen reinen Fremdkörperreiz als Ursache der Granulations = intensivierung kann man wahrscheinlich ausschließen , wenn Talkum bei gleicher Konzentration wie die optimal wirksame LPP-Fraktion nicht mehr stimuliert als physiologische Koch = salzlösung .

WATTS , BADDELEY und WELLINGS (161) haben aus ihren Hyaluroni = dase-Versuchen geschlossen , daß die Mucopolysaccharide einen sehr wesentlichen Einfluß auf die Narbenfestigkeit ausüben . KÜHNAU (10) weist auf die Möglichkeit hin , daß die Hexosamin = bausteine der Polysaccharidkomponente der LPP eine gesteigerte Mukopolysaccharid- und wohl auch Kollagensynthese anregen könnten . Hier wäre also ein möglicher Ansatzpunkt für die beschriebenen heilungsfördernden Effekte des getesteten LPP zu suchen .

Die unter 3f) geschilderten elektronenmikroskopischen Befunde lassen eine Deutung der granulationsfördernden Vorgänge als Wirkung einer Wachstumsinduktion zu . Zunächst sind offen = sichtlich die Abbaumechanismen in den LPP-Schwämmchen deutlich beschleunigt ; möglicherweise kann man zu einem früheren Zeit = punkt auch mehr Freßzellen als im Kontrollgranulom finden . Sicher aber ist , daß die Fibroblastenzahl und mit ihr die gebildete Kollagenmenge signifikant höher liegt . Vielleicht ist sie das nur , weil histiozytäre Elemente Fibrinmassen und Gewebstrümmer schneller beiseite schaffen und so mehr Platz für nachrückende Fibroblasten entsteht als bei den Kontrollen .

Für eine Wachstumsstimulierung sprechen aber auch die erhöhten Nukleinsäurewerte . Leider ließen sich diese Beobachtungen nicht auf das in-vitro-Modell der Fibroblastenkultur übertragen . In hoher Konzentration schien das LPP eher inhibitorisch zu wirken ; der Kollagengehalt war gegenüber den Kontrollen signifikant kleiner , während bei vorsichtiger Dosierung die Mitoserate unbeeinflußt blieb . Nun muß sich zwar ein stimulierender Effekt nicht unbedingt in erhöhter Teilungsfrequenz manifestieren , ebensogut könnte in der Zeiteinheit von einer konstanten Zellzahl mehr oder hochwertigeres Kollagen geliefert werden . Die hohen DNA-Werte sprechen aber eher für numerische Zellvermehrung . Möglicherweise haben die Mißerfolge im in-vitro-Versuch ihren Grund in falscher Dosierung des LPP . Nach den mitgeteilten Versuchen hat es den Anschein , als trete diesseits und jenseits einer bestimmten Schwellendosis ein "Alles-oder-Nichts"-Effekt ein .

Es wäre aber auch eine isolierte Induktion bestimmter Fermente denkbar - tatsächlich ähnelt ja der Verlauf der Heilungskurven einer Enzymkinetik - , etwa der Kollagenprolinhydroxylase . In diesem Zusammenhang ist der Vergleich mit α - Hexachlorcyclohexan interessant , dessen induzierende Wirkung auf verschiedene Fermentsysteme ja bekannt ist (zB. 197 - 202). Bei den Versuchen zur Wundheilung steigerte HCH zwar die Reißfestigkeit , ließ das Granulomgewicht jedoch bei enteraler und lokaler Anwendung unbeeinflußt . Kombinierte man die orale Gabe von HCH mit der lokalen Applikation von LPP , so war der Einfluß auf die Reißfestigkeit schwächer als bei getrennter Darreichung ; ein Befund , der eigentlich gegen einen gemeinsamen Wirkungsmechanismus beider Substanzen spricht .

Sowohl im gravimetrischen Stanzwundentest , der sich mit seinen gut reproduzierbaren Werten bei vergleichsweise anspruchsloser Methodik als sehr brauchbares Kriterium zur Beurteilung des

Heilungsverlaufes erwiesen hat , als auch im Schwammgranulom = test ließ sich aus den Ergebnissen ein chrakteristisches Ver = halten der Heilungskurven ableiten : Nach anfänglich linearem Verlauf stiegen die Kurven plötzlich steil an und blieben dann für den Rest der Beobachtungszeit auf diesem neuen Niveau . Das galt sowohl für die LPP-Kurven , bei denen der stufen = förmige Abschnitt zwischen dem 7. und 10. Tag lag , als auch für die Kontrollkurven , die mit einer Phasenverschiebung von etwa 6 Tagen die Höhe der LPP-Werte erreichten . Man hat den Eindruck , daß sich in diesem Zeitraum ein entscheidender Prozeß im Rahmen der Wundheilung abspielt . Ordnet man ihn chronologisch ein , so fällt er mitten in die Kollagenphase , was die vermutete Wachstumsinduktion der Fibroblasten durchaus bestätigen könnte .

Wenn es sich bei der LPP-Wirkung tatsächlich um einen In = duktionsmechanismus handeln sollte , so muß dieser örtlich begrenzt sein , denn parenterale Applikation blieb ineffektiv . Weder die ohnehin schneller heilenden kranialen Wunden (57) noch die kaudalen Wunden änderten ihre Granulationsgeschwindig= keit ; im Stanzwundentest wurden noch nicht einmal die eng benachbarten Kontrollwunden in den Prozeß mit einbezogen . Außerdem bleibt die Substanz auch nicht , wie ursprünglich erwartet , längere Zeit am Applikationsort liegen , sondern wird derartig schnell abtransportiert , daß nach 24 Stunden nur etwa 20 % am Ort verblieben sind . Voraussetzung dafür ist freilich , daß die für die heilungsfördernde Wirkung zu = ständigen Strukturen des LPP denselben Weg wie die C 14-Anteile im Organismus nehmen . Fast gleichhohe Konzentrationen wie im Wundbereich finden sich in der Leber und sogar im Urin , während die Ausatmungsluft - auch das ist überraschend - nur verschwindend geringe Mengen von radioaktiv markiertem CO_2 enthält . Wo die restliche Aktivität verblieben ist , konnte nicht eruiert werden und bedarf wohl autoradiographischer Untersuchungen . Eventuell wird das restliche C 14 im Fett =

gewebe abgelagert , oder es wird von Leukozyten phagozytiert und dann beispielsweise in der Milz gespeichert .
Für die Beobachtung , daß bei den Exzisionswunden ein weit größeres Defizit an C 14 zu verzeichnen war als bei den In - zisionswunden , gibt es verschiedene Interpretationsmöglich - keiten . Zum einen könnte von der großflächigen Wunde ein Teil des markierten LPP an der Käfigwand abgewischt worden sein - allerdings wurden die Tiere bis zum Antrocknen der applizierten Suspension in Narkose gehalten - , zum andern könnte durch die Eröffnung zahlreicher Gefäße trotz der Blut - stillung eine größere Menge LPP oder radioaktiv markierte LPP-Bruchstücke abtransportiert worden sein .

Schließlich muß noch auf die Nebenwirkungen des getesteten LPP eingegangen werden . Der erste Toxizitätsversuch steht vom Ergebnis her in krassem Gegensatz zum zweiten , was möglicherweise an einer unglücklichen Auswahl der Tiere und an einem Infekt während des Versuches liegen könnte . Es bleibt aber nachzuprüfen , ob durch längeres Lagern , wie im Fall der zweiten Serie , zwar nicht die gewebsstimulierende , wohl aber die toxische Komponente an Wirksamkeit einbüßt .

Die Pyrogentests zeigen die außerordentliche Empfindlichkeit der behandelten Tiere , die schon auf geringste Dosen mit maximaler Fieberreaktion antworteten . Daß der Fieberver - lauf durch Mehrfachinjektionen abgekürzt werden kann , ohne daß es zu einer völligen Toleranz kommt , entspricht den Befunden von EICHENBERGER et al. (173) . Die pyrogene Wirkung bakterieller LPP wird nach vorherrschender Ansicht nicht durch direkte Beeinflussung des ZNS hervorgerufen , sondern auf indirektem Wege . Die Leukozyten sollen einen als "endogenes Pyrogen" bezeichneten Fieberfaktor enthalten , den sie nach der Phagozytose von LPP freisetzen , doch kann die typischerweise zweigipflig verlaufende Fieberreaktion nicht

allein durch die Anwesenheit "endogener Pyrogene" erklärt werden (203) !

Was die Sensibilisierungsversuche angeht , so sprechen die Ergebnisse eher für eine unspezifische , traumatische Reizwirkung als für eine regelrechte Allergisierung , doch wären für eine erschöpfende Aussage über die Allergisierungspotenz des LPP differenziertere Methoden , zB. Präzipitationsreihen , erforderlich . Eine weitgehende Allergisierung ist jedoch nach den vorliegenden Resultaten recht unwahrscheinlich . Wenn bei den Kaninchen die Heftigkeit der Sofortreaktion , bei den Meerschweinchen dagegen die der Spätreaktion überwiegt , so ist darin lediglich eine allgemeine Eigenschaft der betreffenden Tierspezies , nicht etwa ein besonderer Effekt des LPP zu erblicken (185) .

Wenn man tierexperimentelle Befunde speziell im Bereich des Hautorgans auch nicht ohne weiteres auf menschliche Verhältnisse übertragen darf , so zeigen die Versuche doch einen deutlich positiven Effekt des LPP auf verschiedene Wundmodelle . Selbst unter den erschwerten Heilungsbedingungen des Stanzwundentests mit fast völliger Entfernung des subkutanen Bindegewebes läßt sich der Reparationsprozeß statistisch signifikant abkürzen . Eine therapeutische Anwendung der gereinigten Lipopolysaccharide würde allerdings noch eingehende Untersuchungen , speziell über die chemische Struktur und den molekularpharmakologischen Wirkungsmechanismus , zur Voraussetzung haben müssen .

ZUSAMMENFASSUNG

Ein phenolextrahiertes Lipopolysaccharid des Pseudomonas - aeruginosa - Stammes 14885 a , chemisch definiert durch seinen Phosphorgehalt von 2,9 % des Trockengewichts , wurde an verschiedenen Wundmodellen auf seine Brauchbarkeit ge - testet :

Es steigerte die Reißfestigkeit vernarbender In - zisionswunden und Schwammgranulome bei lokaler Applikation .

Die Heilungsgeschwindigkeit flächenhafter Wunden wurde bei lokaler Anwendung gesteigert , bei par - enteraler Gabe dagegen nicht .

Im Granulomtest stieg das Gewicht behandelter Kunst - stoffschwämmchen bis zum 13.Tag schneller an als bei den Kontrollen , danach erfolgte eine Angleichung .

Am 10.Tag sind die Werte für DNA , RNA und Kollagen in den LPP-Schwämmchen höher als bei den Kontrollen .

Elektronenmikroskopisch ergibt sich für die LPP - Granulome ein beschleunigter Ablauf der histio - zytären Abräumphase und ein entsprechend früherer und intensiverer Beginn der Kollagensynthese in den Fibroblasten .

Diese stimulierenden Effekte waren mit den ge - wählten Konzentrationen in der Fibroblastenkultur nicht nachzuweisen . In hoher Dosierung schien das LPP eher zu hemmen .

Die Heilungsbeschleunigung um ca 2 Tage ließ sich durch Spezialbedingungen (Epinephrektomie , Zweitwunde) nicht verändern .

Studien mit C 14 - markiertem LPP zeigten einen äußerst raschen Stoffwechsel der lokal applizierten Substanz .

Unerwünschte Nebenwirkungen , vor allem die Ge = fahren der allergischen Sensibilisierung , spielen anscheinend keine entscheidende Rolle .

-.-.-.-.-.-

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. SCHILLING , J.A.
"Wound healing"
Physiol.Rev. 48,374/1968

2. HEGEMANN , G.
"Wundheilung und Wundbehandlung"
Lehrbuch der Chirurgie von Hellner, Nissen und Voßschulte
Thieme Verlag Stuttgart 5. Auflage ,1967/S.4

3. VILJANTO , J.
"Biochemical basis of tensile strength in wound healing"
Acta chir.scand. Suppl. 333,1964

4. UNGLAUBE , H.L.
"Zur Biologie der Wundgranulation"
ZBL.Chir. 92,1102/1967

5. WHIPPLE , A.O.
"Wound healing"
Military Surgical Manuals V
W.B.Saunders Comp., Philadelphia & London 1943

6. LINDNER , J.
"Neue Ergebnisse zur Morphologie,Biochemie und Radio - chemie der Wundheilung"
Zbl.Chir. 92,1061/1967

7. KETTLER , L.-H.
"Das morphologische Bild der Wundheilung"
Zbl.Chir. 92,1049/1967

8. OEHLERT , W.
"Die Zellneubildung in Epithel und im Granulationsge - webe bei der Wundheilung"
Wundheilung und Wundnaht - Sympsium in Bad Homburg
Verl. Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien 1967/S.22

9. LINDNER , J.
"Die Morphologie der Wundheilung"
Langenbecks Arch.Klin.Chir. 301,39/1962

10. KÜHNAU , J.
"Biochemie der Wundheilung"
Wundheilung und Wundnaht - Symposium in Bad Homburg
Verl. Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien 1967/S.12

11. KOSLOWSKI , L.
"Wundheilung - Wundinfektion - Wundbehandlung"
Chirurg 38,347/1967

12. GRILLO , H.C. , WATTS , G.T. , GROSS , J.
"Studies in wound healing : I. Contraction and the wound contents"
Ann.Surg. 148,145/1958

13. DUNPHY , J.E. , UDUPA , K.N.
"Chemical and histochemical sequences in the normal healing of wounds"
New Engl.J.Med. 253,847/1955

14. BLOCK , W.
"Wundheilungsprobleme"
Springer Verlag , Berlin-Göttingen-Heidelberg 1959

15. ALLGÖWER , M.
"Neuere Erkenntnisse zur Entstehung des reparativen Binde- und Stützgewebes"
ZBL.Chir. 92,1060/1967

16. PEACOCK , E.E.
"Inter- and intramolecular bonding in collagen of healing wounds by insertion of methylene and amide cross links into scat tissue : Tensile strength and thermal shrinkage in rats"
Ann.Surg. 163, 1/1966

17. SPECTOR , W.G.
"Cellular aspects of chronic inflammation"
"Wound healing" J.&A. Churchill Ltd London 1966/S.17

18. VINOGRADOV , V.V.
"Mucopolysaccharide histochemistry in the healing of skin wound"
Arkh.Patol. 28,49/1966

19. MENKIN , V.
Comment at a panel discussion
"Inflammation and diseases of connective tissue"
W.B.Saunders Comp., Philadelphia & London 1961/S.27

20. PIKKARAINEN , J.
"The molecular structures of vertebrate skin collagens. A comparative study"
Acta physiol.scand. Suppl. 309, 1968

21. WILLIAMSON , M.B., FROMM , H.J.
"The incorporation of sulfur amino acids into the protein of regenerating wound tissue"
J.Biol.Chem. 212,705/1955

22. KIVIRIKKO , K.I. , PROCKOP , D.J.
"Enzymatic hydroxylation of proline and lysine in proto = collagen"
Proc.nat.Acad.Sci. (Wash.) 57,782/1967

23. JUVA , K.
"Hydroxylation of proline in the biosynthesis of collagen"
Acta physiol.scand. Suppl. 308, 1968

24. MANNER , G. , KRETSINGER , R.H. , GOULD , B.B., RICH, A.
"The polyribosomal synthesis of collagen"
Biochim.Biophys.Acta 134,411/1967

25. MERKER , H.-J.
"Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Fibrillogenese im menschlichen Granulationsgewebe"
Langenbecks Arch.klin.Chir. 297,411/1961

26. MILES , A.A.
"Current notions about acute inflammation"
"Wound healing" J.& A. Churchill Ltd, London 1966/S.3

27. HOUCK , J.C. , JOHNSTON , J. , JACOB , R.A.
"Chemical biology of in vivo and in vitro wounds"
"Chemical biology of inflammation" Pergamon Press 1968

28. HUNT , T.K. , HUTCHISON , J.G.P.
"Studies on the oxygen tension in healing wounds"
"Wound healing" J.& A. Churchill Ltd, London 1966/S.257

29. MILLER, E.J. , MARTIN, G.R.
"The collagen of bone"
Clinical Orthopaedics 59 , edited by M.R. Urist
Pitman Medical Publishing Co.,Ltd London 1968/S.216

30. ASBOE - HANSEN , G.
"Endocrine control on connective tissue"
"Inflammation and diseases of connective tissue"
W.B.Saunders Comp., Philadelphia & London 1961/S.38

31. BENTLEY , J.P.
"The chondroitin sulfates of healing skin wounds"
Acta chem.scand. 19,2235/1965

32. BERENSON , G.S. , LUMPKIN , W.M. , SHIPP, V.G.
"Production of acid mucopolysaccharides by fibroblasts in synthetic medium"
Fed.Proc. 17,189/1958

33. BIRKE , G. , LILJEDAHL , S.-O. , PLANTIN , L.-O. , REIZENSTEIN , P.
"The distribution and losses through the wound of J^{131}-albumin measured by whole-body counting"
Acta chir.scand. 134,27/1968

34. SEILERN - ASPANG , F., SMITH ,I. , CHRISTIAN , I.
"The ratio of soluble to insoluble collagen in normal chick dermis"
Proc.Soc.exptl.Biol.Med. 127,818/1968

35. GLENN , E.M.
"Fibrinogen and experimental inflammation"
Biochem.Pharmacol. 18,317/1969

36. GOULD , B.S.
"Biosynthesis of collagen. III.The direct action of ascorbic acid on hydroxyproline and collagen formation in subcutaneus polyvinyl sponge implants in guinea pigs"
J.Biol.Chem. 232,637/1958

37. SZANTO , G.
"Einige biologische Faktoren der Wundheilung"
Zbl.Chir. 92,1072/1967

38. ODEN , B.
"A micro-lymphangiographic study of experimental wounds healing by second intention"
Acta chir.scand. 120,100/1960

39. BULLOUGH , W.S.
"Cell replacement after tissue damage"
"Wound healing" J.&A.Churchill Ltd, London 1966/S.43

40. TRAUB , W. , YONATH , A. , SEGAL , D.M.
"On the molecular structure of collagen"
Nature 221,914/1969

41. DOUGLAS , D.M.
"Factors affecting the gain of tensile strength in healing wounds"
"Healing wounds" J.& A. Churchill Ltd, London 1966/S.233

42. DI PASQUALE , G. , TRIPP , L. , STEINETZ , B.G.
"Effect of lysosomal labilizers and pro-inflammatory substances on connective tissue repair as measured by tensile strength"
Proc.Soc.Exptl.Biol.Med. 127,253/1968

43. WEIBER , A.
"Studies in vascularisation of healing wounds with radioactive isotopes"
Acta chir.scand. Suppl. 237 ,1959

44. MUSSINI , E. , HUTTON ,J. , UDENFRIEND , S.
"Collagen proline hydroxylase in wound healing , granuloma formation , scurvy , and growth"
Science 157,927/1967

45. ABERCROMBIE , M.
"Initiation and control of cell locomotion"
"Wound healing" J.& A. Churchill Ltd, London 1966/S.61

46. WATTS , G.T. , GRILLO , H.C. , GROSS , J.
"Studies in wound healing : II. The role of granulation tissue in contraction"
Ann.Surg. 148,154/1958

47. BARON , H.
"Tierexperimentelle Untersuchungen zum proteolytischen Effekt bei kurz- und langphasigen Frequenzen thermischer Wundsetzungsserien unter besonderer Berücksichtigung tages- und jahreszeitlicher Schwankungen"
Zbl.Chir. 11,380/1966

48. BARON , H., ALBRECHT , J., HÄUSSER , H., MARTENS , H.-L., NEUSÜSS , B., OELZE , B., SPÄTHE , H.
"Wundheilung als methodisches und biologisches Problem im Lichte körpereigener Abwehr, insbesondere von Impftumoren"
Arzneim.-Forsch. 17,113/1967

49. BARON , H.
"Der Einfluß des physikalisch und chemisch bedingten Milieus auf die Wundheilung , insbesondere auf die Wirkungsweise äußerlich angewendeten Penicillins"
Arzneim.-Forsch. 5, 78 & 127/1955

50. BARON, H.
"Untersuchungen über Wundtextil-Verklebung"
Arzneim.-Forsch. 5 ,237/1955

51. BARON , H.
"Sind Wundtextilien Heilmittel ?"
Arzneim.-Forsch. 5, 726/1955

52. BARON , H.
"Die Bedeutung des Temperaturfaktors für Wunde und Haut bei Bedeckung mit "non woven"- und Folienschichten , unter besonderer Berücksichtigung von Kühlfarben"
Arzneim.-Forsch. 17, 1402/1967

53. SANDBERG , N. , ZEDERFELDT , B.
"Delayed effect of denervation on the healing of skin incisions in the rabbit"
Acta chir.scand. 121; 111/1961

54. SANDBERG , N.
"Granulation tissue hydroxyproline in the rat after inhibition of histamine formation"
Acta chir.scand. 121, 22/1964

55. SANDBERG , N.
"Enhanced rate of healing in rats with an increased rate of histamine formation"
Acta chir.scand. 127, 9/1964

56. SANDBERG ,N.
"On the healing of wounds in rats during the period of cicatrization"
Acta chir.scand. 126, 294/1963

57. SANDBERG , N., ZEDERFELDT , B.
"The tensile strength of healing wounds and collagen formation in rats and rabbits"
Acta chir.scand. 126, 187/1963

58. BRUNIUS , U. , ZEDERFELDT , B. , ÅHREN , CH.
"Healing of skin incisions with intact subcutaneous muscle closed by non-suture technique"
Acta chir.scand. 134, 187/1968

59. BRUNIUS , U. , ZEDERFELDT , B., ÅHREN , CH.
"Healing of skin incisions closed by non-suture technique"
Acta chir.scand. 133, 509/1967

60. RUDAS, B.
"Zur quantitativen Bestimmung von Granulationsgewebe in experimentell erzeugten Wunden"
Arzneim.-Forsch. 10, 226/1960

61. KOVAC , W. , MITTERMAYER , K. , RUDAS , B.
"Histologische Untersuchungen über die Beeinflussung des reparativen Granulationsgewebes durch Antiphlogistica an Ratten"
Arch.int.Pharmacodyn.Thér. 176, 104/1968

62. SAVLOV , E.D. , DUNPHY , J.E.
"The healing of the disruptured and resutured wound"
Surgery 36, 362/1954

63. BENGMARK , S. , OLSSON , O. , RYDBERG, B.
"The use of tissue culture for biological tests of the influence of modern textile fibers"
Acta chir.scand. 133, 601/1967

64. VILJANTO , J. , AHONEN , J.
"Biochemical factors limiting granulation tissue for - mation"
Acta chir.scand. 134, 183/1968

65. VILJANTO , J. , ISOMÄKI , H. , KULONEN , E.
"Effect of aminoacetonitrile, iproniazid and semi - carbazide on the tensile strength of experimental granulation tissue"
Acta pharmacol.toxicol. 19, 191/1962

66. BENGMARK , S. , RYDBERG , B.
"Cytotoxic action of cationic detergents on tissue growth in vitro"
Acta chir.scand. 134, 1/1968

67. ERICI , I.
"Effect of septofyllin on the rate of healing of aseptic wounds in rabbits"
Acta chir.scand. 112, 348/1956

68. ERICI , I.
"Effect of environmental temperature on the rate of wound healing"
Acta chir.scand. 112, 345/1956

69. SLACK , H.G.B.
"Connective tissue growth stimulated by carrageenin. II. The metabolism of sulphated polysaccharides"
Biochem.J. 65, 459/1957

70. STRUCK, E. , SCHINK, W. , HERNANDEZ-RICHTER, J. , MOLL, W.
"Eine Apparatur zur Bestimmung der Wundfestigkeit in vivo"
Zschr.ges.exper.Med. 142, 87/1967

71. WEIBER , A.
"Vascularisation of a disrupted and resutured wound compared with that of a primarily healing wound"
Acta chir.scand. 121, 1/1961

72. DOUGLAS , B.
"A gravimetric method for determining the superficial area of wounds"
Ann.Surg. 73, 673/1921 zitiert bei VILJANTO (3)

73. CHEN , R.W. , POSTLETHWAIT , R.W.
"Ascorbic acid in the biosynthesis and maintenance of collagen"
Surg.Gynec.Obstet. 112, 667/1961

74. FREIHOFFER , U. , ROBINSON , E.A. , JACKSON , D.S. , DUNPHY , J.E.
"The effect of bacterial endotoxin on connective tissue growth and wound tensile strength"
Surg.Forum 11, 293/1960

75. CATTY , R.H.C.
"Healing and contraction of experimental full-thickness wounds in the human"
Brit.J.Surg. 52, 542/1965

76. GIBSON , T. , KENEDI , R.M. , CRAIK , J.E.
"The mobile micro-architecture of dermal collagen"
Brit.J.Surg. 52 , 764/1965

77. GIBSON , T.
"The micro-architecture of dermal fibres"
"Wound healing" J.& A. Churchill Ltd, London 1966/S.267

78. BODVALL , B. , RAIS , O.
"Effects of infiltration anaesthesia on the healing of incisions in traumatized and non-traumatized tissues"
Acta chir.scand. 123, 83/1962

79. GREENE , L.C.
"Healing of thermal burns in cats treated with pyromen"
Amer.J.Phys. 167, 789/1951

80. GRIBBLE , T.J. , COMSTOCK , J.P. , UDENFRIEND , S.
"Collagen chain formation and peptidyl proline hydroxylation in monolayer tissue cultures of L-929 fibroblasts"
Arch.Biochem.Biophys. 129, 308/1969

81. SANDBLOM , PH. , PETERSEN , P. , MUREN , A.
"Determination of the tensile strength of the healing wound as a clinical test"
Acta chir.scand. 105, 253/1953

82. WILLIAMSON , M.B. , FROMM , H.J.
"Effect of cystine and methionine on healing of experimental wounds"
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 80, 623/1952

83. VAN B. ROBERTSON , W.
"The relation of ascorbic acid to the conversion of proline to hydroxyproline in the synthesis of collagen in the carrageenan granuloma"
J.Biol.Chem. 234, 105/1959

84. HARKNESS , M.L.R. , HARKNESS , R.D.
"Effect of sulphydryl reagents on a mechanical property of skin"
Nature 211 , 496/1966

85. HARKNESS , R.D.
"Factors affecting the strength of the dermis"
"Wound healing" J.& A.Churchill Ltd, London 1966/S.243

86. HEITE , H.-J.
"Ein tierexperimentelles Modell zur quantitativen Prüfung wundheilungsfördernder Salben"
Arzneim.-Forsch. 5, 151/1955

87. HUTTON , J.J.jr. , TAPPEL , A.L., UDENFRIEND , S.
"A rapid assay for collagen proline hydroxylase"
Analyt.Biochem. 16, 384/1966

88. HUTTON , J.J.jr. , TAPPEL , A.L. , UDENFRIEND , S.
"Cofactor and substrate requirements of collagen proline hydroxylase"
Arch.Biochem.Biophys. 118, 231/1967

89. JACKSON, D.S.
"Connective tissue growth stimulated by carrageenin. I. The formation and removal of collagen"
Biochem.J. 65, 277/1957

90. LEHTONEN , A.
"The mucopolysaccharides in ageing experimental granulation tissue"
Acta physiol.scand. Suppl. 310 /1968

91. HERNANDEZ - RICHTER , J. , STRUCK , H.
"Experimentelle Untersuchungen über die Beeinflussung der Wundheilung durch lösliches Kollagen"
Münch.Med.Wschr. 106, 310/1964

92. LEVENSON , S.M. , TENNANT , B.
"Some metabolic and nutritional studies with germfree animals"
Fed.Proc. 22, 109/1963

93. KELLY , E.W.
"Histology of sponge implant in the albino rat"
Arch.Path. 74, 542/1962

94. KELLY , E.W.
"Estrogen effect on sponge implant histology in albino rat"
Arch.Pathol. 74, 550/1962

95. KLINGENBERG , H.G.
"Der Einfluß des Heparins auf die Wundheilung"
Arzneim.-Forsch. 2, 120/1952

96. KALYANPUR ,SG. , POHUJANI ,S. , NAIK ,S.R. , SHETH , U.K.
"Study of biochemical effects of anti-inflammatory drugs in carrageenin induced oedema and cotton pellet granuloma"
Biochem.Pharmacol. 17, 797/1968

97. MAKINEN , P.-L. , KAEKALLIO , J.
"Effect of hydrocortisone on aminopeptidase activation in early wound healing"
Naturwissenschaften 54, 202/1967

98. MATTHES , H. , V. LOJEWSKI , D.
"Ultralan oral. Experimentelle und klinische Prüfungser = gebnisse"
Med.Mitteilungen , Schering AG Berlin/Bergkamen 30, 1/1969

99. PRICE , P.B. , CALL , D.E. , HANSEN , F.L. , ZEHWICK ,C.J.
"Histopathologic changes in experimental thermal wounds"
Surgery 36, 664/1954

100. MEIER , R. , DESAULLES , P.A. , SCHÄR , B.
"Verschiedenartiger Wirkungstypus bakterieller "ent = zündungserregender" Substanzen und anderer Reizstoffe"
Arch.exp.Path.Pharmakol. 224, 104/1955

101. ROEPER ,R. , HUPE , K.
"Tierexperimentelle Untersuchungfen über die Wundheilung nach Anwendung von klebstoff (Methyl-2-Cyano-Acrylat-Monomer) "
Bruns Beitr.klin.Chir. 213, 488/1966

102. ROSEN , H. , GEEVER , E.F. , BERARD , C.W., LEVENSON , S.M.
"Effect of deuterium oxyde on wound healing , collagen and metabolism of rats"
New Engl.J.Med. 270, 1142/1964

103. SAXEN , A. , TUOVINEN , P.I.
"Experimental and clinical observations on granulomas caused by talc and some other substances"
Acta chir.scand. 96, 131/1948 zitiert bei VILJANTO (3)

104. RUDAS , B.
"Zum Wirkungsmechanismus der Hemmung des reparativen Granulationsgewebes durch Antiphlogistica und Luft = abschluß"
Arzneim.-Forsch. 12, 386/1962

105. RYDBERG , B. , ZEDERFELDT , B.
"Influence of cationic detergents on tensile strength of healing skin wounds in the rat"
Acta chir.scand. 134, 317/1968

106. SANDSTEAD, H.H. , SHEPARD , C.H.
"The effect of zinc deficiency on the tensile strength of healing surgical incisions in the integument of the rat"
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 128, 687/1968

107. SIXT , H. , SPELSBERG , F. , KLEMM , J. , MEYER , A., POSTENRIEDER , I.
"Tierexperimentelle Untersuchungen zur Beeinflussung der Wundheilung"
Arzneim.-Forsch. 18, 1460/1968

108. PEACOCK , E.E. , BIGGERS , P.W.
"Measurement and significance of heat-labile and urea - sensitive cross-linking mechanisms in collagen of healing wounds"
Surgery 54, 144/1963

109. AER , J. , HALME , J. , KIVIRIKKO , K.I. , LAITINEN , O.
"Action of growth hormone on the metabolism of collagen in the rat"
Biochem.Pharm. 17, 1173/1968

110. ALMERSJÖ , O. , HULTEN , L., RYDBERG , B., WAHLQUIST , L., ÅHREN , CH.
"Wound healing after depilation with a keratolytic cream"
Acta chir.scand. 133, 355/1967

111. ARIPOW , U.A. , LICMANOWA , G.I., SAATOW , C.I., CHAITOW , R.
"Zu den Besonderheiten des Verlaufs der Reparations - prozesse bei der Einwirkung einiger physikalischer Faktoren auf den Organismus"
Zbl.Chir. 92, 1097/1967

112. BARBERA , V. , POLLICE , L. , MAZZARELLA , L.
"Effects of 4-Hydroxy-17 alpha-methyltestosterone and prednisolone on wound healing"
Experientia 18, 424/1962

113) BHUSSRY , B.R., RAO , S.
"Wound healing in papain treated rats"
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 115, 1010/1964

114. BHUSSRY , B.R., RAO , S.
"Wound healing . Histochemical response to experimental skin injury in rats"
"Chemical Biology of Inflammation" Pergamon Press 1968

115. BROCKMANN , A.W.
"Vitamin C. Grundlagenforschung und therapeutische Ver - wendung"
Arzneim.-Forsch. 1 , 169/1951

116) BRUNIUS , U. , ZEDERFELDT , B.
"Effects of antiinflammatory treatment on wound healing"
Acta chir.scand. 129, 462/1965

117. DINSTL , K.
"Über den Einfluß verschiedenen Naht- und Ligaturmaterials auf die Wundheilung nach Strumaresektion"
Zbl.Chir. 91, 861/1966

118. EHRLICH , H.P. , HUNT , T.K.
"Effects of cortisone and vitamin A on wound healing"
Ann.Surg. 167, 324/1968

119. FINDLAY , C.W. , HOWES , E.L.
"The combined effect of cortisone and partial protein depletion on wound healing"
New Engl.J.Med. 246, 597/1952

120. FOSTER , T.S.
"The metabolism of mucopolysaccharides. III. The effect of adrenocortical hormones on enzymes involved in glucuronide synthesis and metabolism in connective tissue"
Canad.J.Biochem. 45, 1245/1967

121. GREEN , J.P.
"Steroid therapy and wound healing in surgical patients"
Brit.J.Surg. 52, 523/1965

122. HARKNESS , R.D. , NIMNI , M.E.
"Chemical and mechanical changes in the collagenous frame - work of skin induced by thiol compounds"
Acta physiol.Acad.Sci.Hung.Tomus 33, 325/1968

123. HEGEMANN , G.
"Untersuchungen über die Bedeutung einiger Allgemeinein - flüsse auf den Wundheilungsprozeß"
Klin.Wschr. 28, 158/1959

124. HERNANDEZ - RICHTER , J. , STRUCK , H. , SIXT , H.
"Über Heilung und Beeinflussung experimentell gesetzter Wunden durch lösliches Kollagen"
Virchows Arch.path.Anat. 339, 198/1965

125. HOGEMAN , K.-E. , GUSTAFSON , G. , BJÖRLIN , G.
"Ivalon surgical sponge used as temporary cover of ex - perimental skin defects in rats"
Acta chir.scand. 121, 83/1961

126. HOUCK , J.C. , SHARMA , V.K. , PATEL , Y.M. , GLADNER , J.A.
"Induction of collagenolytic and proteolytic activities by anti-inflammatory drugs in the skin and fibroblasts"
Biochem.Pharmacol. 17, 2081/1968

127. JEFFREY , J.J. , MARTIN , G.R.
"The role of ascorbic acid in the biosynthesis of collagen . II. Site and nature of ascorbic acid participation"
Biochim.Biophys.Acta 121, 281/1966

128. JØRGENSEN , O. , SCHMIDT , A.
"Influence of sex hormones on granulation tissue formation and on healing of linear wounds"
Acta chir.scand. 124, 1/1962

129. JUNGE - HÜLSING , G. , SCHMITT , G. , WAGNER , H.
"Über den Einfluß verschiedener herzwirksamer Pharmaka auf das Bindegewebe"
Med.Welt 49, 2961/1967

130. KÖHNLEIN , H.E. , LUSCHE , R.
"Tierexperimentelle Untersuchungen von Kollagenfilmnot - verbänden"
Chir.plast.reconstr. 4, 84/1967

131. HURYCH , J. , CHVAPIL , M.
"Influence of chelating agents on the biosynthesis of collagen"
Biochim.Biophys.Acta 97, 361/1965

132. KOWALEWSKI , K.
"Effect of an anabolic steroid upon various fractions of tissue hydroxyproline in cortisone treated rats"
Acta endocrin. 53, 73/1966

133. KOWALEWSKI , K. , YONG , S.
"Effect of growth hormone, an anabolic steroid, and cortisone upon various fractions of skin and bone hydroxyproline in mice"
Canad.J.Physiol.Pharmacol. 46, 591/1967

134. LINDNER , A. , RUDAS , B.
"Zum Mechanismus der Hemmung der reparativen Granulationsgewebsbildung durch den Abschluß von Hautwunden"
Klin.Med. 21, 35/1966

135. LÖFSTRÖM , B. , ZEDERFELDT , B.
"Effects of induced hypothermia on wound healing. An experimental study in the rabbit"
Acta chir.scand. 112, 152/1956

136. LÖFSTRÖM , B. , ZEDERFELDT , B.
"Wound healing after induced hypothermia. IV. Importance of the rewarming phase"
Acta chir.scand. 129, 341/1965

137. LUNDGREN , C. , MUREN , A. , ZEDERFELDT , B.
"Effect of cold-vasoconstriction on wound healing in the rabbit"
Acta chir.scand. 118, 1/1959

138. MATZANDER , U.
"Parenchymatöser Leberschaden als Ursache von Wunddehiszenzen nach Laparatomie"
Langenbecks Arch.klin.Chir, 302, 743/1963

139. MUREN , A. , ZEDERFELDT , B.
"Delayed effect of denervation on the healing of superficial skin defects in rabbits"
Acta chir.scand. 132, 618/1966

140. NEUBERT , D. , WEDELL , J. , KROWKE , R.
Unveröffentlichte Versuche

141) NICOLAU , S.G. , BADANOIU , A.
"Die stimulierende Wirkung der Desoxyribonucleinsäure bei der Vernarbung experimantell gesetzter Hautwunden"
Hautarzt 17, 512/1966

142. NIMNI , M.E.
"A defect in the intramolecular and intermolecular cross - linking of collagen caused by penicillamine"
J.Biol.Chem. 243, 1457/1968

143. OTT , G.
"Alloplastischer Hautersatz mit porösen Kunststoffen"
Langenbecks Arch.klin.Chir. 305, 61/1963/64

144. PAGE , R.C. , BENDITT, E.P.
"A molecular defect in lathyritic collagen"
Proc.Soc.exp.Biol. 124, 459/1967

145. PRIEST, R.E. , BUBLITZ , C.
"The influence of ascorbic acid and tetrahydropteridine on the synthesis of hydroxyproline by cultured cells"
Lab.Invest. 17, 371/1967

146. PRUDDEN , J.F. , GABRIEL , O. , ALLEN , B.
"The acceleration of wound healing"
Arch.Surg. 86, 157/1963

147. RASMUSSEN , F.
"Effect of androgens and anabolic steroids on rabbit urinary bladder and ureter. Biochemical and morphological studies on intact tissue and healing wounds"
Acta endocrinol. 57, 414/1968

148. VAN B. ROBERTSON , W. , HEWITT , J.
"Augmentation of collagen synthesis by ascorbic acid in vitro"
Biochim.Biophys.Acta 49, 404/1961

149. VAN B. ROBERTSON , W.
"The biochemical role of ascorbic acid in connective tissue"
Ann.N.Y.Acad.Sci. 92, 159/1961

150. VAN B. ROBERTSON , W.
"D-ascorbic acid and collagen synthesis"
Biochim.Biophys.Acta 74, 137/1963

151. ROSEN , H. , BLUMENTHAL , A. , MC CALLUM , J.
"Effect of asiaticoside on wound healing in the rat"
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 125, 279/1967

152. SANDBERG , N.
"Time relationship between administration of cortisone and wound healing in rats"
Acta chir.scand. 127, 446/1964

153. SANDBERG , N. , STEINHARDT , C.
"On the effect of cortisone on the histamine formation of skin wounds in the rat"
Acta chir.scand. 127 , 574/1964

154. SANDBERG , N. , ZEDERFELDT , B.
"Influence of acute hemorrhage on wound healing in the rabbit"
Acta chir.scand. 118, 367/1960

155. SANDBERG , N.
"Some factors controlling healing of incised wounds"
"Wound healing" J.& A.Churchill Ltd, London 1966/S.275

156. SEIFERT , R. , HILZ , H.
"Selective and reversible inhibition of proliferation and influence on metabolic functions in L-cells by low cortisol concentrations"
Acta endocrinol. 53, 189/1966

157. SMITH , Q.T.
"Radioactivity of hydroxyproline from urine and collagens of normal and cortisone-treated rats"
Biochem.Pharmacol. 16, 2171/1967

158. STONE , N. , MEISTER , A.
"Function of ascorbic acid in the conversion of proline to collagen hydroxyproline"
Nature 194, 556/1962

159. TEIR , H. , NYSTROM, B.
"Organ homogenates to stimulate wound healing in rats"
Arch.Path. 74, 499/1962

160. TRNAVSKA , Z. , TRNAVSKY , K. , KÜHN , K.
"The influence of sodium salicylate on the metabolism of collagen in the lathyritic rat"
Biochem.Pharmacol. 17, 1501/1968

161. WATTS , G.T. , BADDELEY , R.M. , WELLINGS , R.
"Wound collagen : Effect of depolymerizing agents on wound granulation tissue"
Nature 201, 636/1964

162. WOLARSKY , E.R. , FINKE , S.R. , PRUDDEN , J.F.
"Acceleration of wound healing with heterologous cartilage. Immunological considerations"
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 123, 556/1966

163. WESTPHAL, O. , LÜDERITZ , O. , BISTER , F.
"Über die Extraktion von Bakterien mit Phenol/Wasser"
Zschr.Naturforsch. 7 b , 148/1952

164. WESTPHAL , O. , LÜDERITZ , O.
"Chemische Erforschung von Lipopolysacchariden gram = negativer Bakterien"
Angew.Chem. 66, 407/1954

165. BJÖRLIN , G. , HOGEMAN, K.E., NORDEN , G. , KAWANISHI , I.
"Effect of EDH-adhesive on wound healing in rats and guinea pigs"
Acta chir.scand. 129, 123/1965

166. GREEN , H. , GOLDBERG , B. , TODARO , G.J.
"Differentiated cell types and the regulation of collagen synthesis"
Nature 212, 631/1966

167. JEFFREY , J.J. , MARTIN , G.R.
"The role of ascorbic acid in the biosynthesis of collagen. I. Ascorbic acid requirement by embryonic chick tibia in tissue culture"
Biochim.Biophys.Acta 121, 269/1966

168. WOZIWODZKI , G.
"Das fibrinolytische System in der postoperativen Phase und seine Bedeutung für die normale und gestörte Wund = heilung"
Zbl.Chir. 92, 1086/1967

169. STEGEMANN , H. , STALDER , K.
"Determination of hydroxyproline"
Clin.Chim.Acta 18, 267/1967

170. SCHMIDT , G. , THANNHAUSER , S.J.
"A method for the determination of desoxyribonucleic acid , ribonucleic acid , and phosphoproteins in animal tissues"
J.Biol.Chem. 161, 83/1945

171. BURTON , K.
"A study of the conditions and mechanisms of the di = phenylamine reaction for the colorimetric estimation of desoxyribonucleic acid"
Biochem.J. 62, 315/1956

172. ALAUPOVIC , P , SOLOMON , L.A. , OLSON , A.C. , JORDAN , M.M. , HINSHAW , L.B.
"Relationship of chemical structure to hemodynamic properties of endotoxin"
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 127, 253/1968

173. EICHENBERGER , E. , SCHMIDHAUSER - KOPP , M. , HURNI , H. , FRICSAY , M. , WESTPHAL , O.
"Effects biologiques d'un pyrogène rigoureusement purifié (lipopolysaccharide) provenant de Salmonella abortus equi"
Schweiz.Med.Wschr. 85, 1190/1955

174. ENGEL , E. , BRICHANT , J. , DELMEZ , J.P. , VERNET , A., RIONDEL , A.M.
"Influence de la pyréothérapie sur la réponse et l'activité du plasma chez l'homme"
Helvet.Med.Acta 24, 459/1957

175. ENGEL , E. , DEMANET , J.C. , BRICHANT , J. , RIONDEL ,A.M.
"Emploi d'un pyrogène comme test de la stimulation neuro-hypophyso-surrénalienne"
Helvet.Med.Acta 25, 552/1958

176. FROHMAN , L.A. , HORTON , E.S. , LEBOVITZ , H.E.
"Growth hormone releasing action of a Pseudomonas endotoxin (piromen)"
Metabolism 16, 57/1967

177. GUSTAVSON , K.H.
"The chemistry and reactivity of collagen"
New York Acad.Press 1956,S.211 zitiert bei PEACOCK (16)

178. HEILMEYER , L. , KRAUSE , H.
"Schilddrüse und Entzündung"
Klin.Wschr. 37, 68/1959

179. HEILMEYER , L. , KERP , L. , PILZ , D.
"Gesteigerte Entzündungsreaktion der Haut im Pyrexaltest, induziert durch eine Allergie vom verzögerten Typ . Ein Beitrag zur Frage der Allophlogistie (I)"
Klin.Wschr. 42, 209/1964

180. HEILMEYER , L. , KERP , L. , RUDOLF , K.
"Gesteigerte Entzündungsreaktion der Haut , induziert durch eine Allergie gegen Vaccimin-Virus. Ein Beitrag zur Frage der Allophlogistie (II)"
Klin.Wschr. 43, 293/1965

181. HEILMEYER , L. , KERP , L. , KASEMIR , H. , GÜNTHER , E.
"Ablauf der Hautentzündung im Endotoxin-Hauttest am Kaninchen nach Präparation des generalisierten Sanarelli-Shwartzman-Phänomens. Experimentelle Untersuchungen zur Allophlogistie (IV)"
Klin.Wschr. 45, 367/1967

182. HEILMEYER , L. , KERP , L. , KASEMIR , H. , GÜNTHER , E.
"Zur Hemmung der Endotoxin-Hautentzündung durch Vorbe = handlung mit Vitamin A"
Klin.Wschr. 45, 586/1967

183. NOWOTNY , A.
"Immunogenicity of toxic and detoxified endotoxin preparations (32790)"
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 127, 745/1968

184. OSBORN , J. , ROSEN , S.M. , ROTHFIELD , L. ,
ZELEZNICK , L.D. , HORECKER , B.L.
"Lipopolysaccharide of the gram-negative cell wall"
Science 145, 783/1964

185. KLASCHKA , F.
Persönliche Mitteilung

186. GRONEMEYER , W.
"Intrakutaner Allergentest (Intrakutanprobe)"
"Praktische Allergie-Diagnostik"
Thieme Verlag Stuttgart 1968 / S. 10

187. WERNER , M.
"Diagnostische Bedeutung und klinische Interpretation der Hautproben"
"Praktische Allergie-Diagnostik"
Thieme Verlag Stuttgart 1968/S. 50

188. SCHAUER , A. , GIELOW , L. , CALVOER , R.
"Zur Pathologie des Endotoxinschocks"
Klin.Wschr. 45, 593/1967

189. SHANDS , J.W. , GRAHAM , J.A. , NATH , K.
"The morphologic structure of isolated bacterial lipo = polysaccharide"
J.Mol.Biol. 25, 15/1967

190. SOLOMON , L.A. , HINSHAW , L.B.
"Effect of acetylsalicylic acid on the liver response to endotoxin"
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 127, 253/1968

191. URBASCHEK , B. , VERSTEYL , R. , GÖTTE , D.
"Die histamin-sensibilisierende Wirkung von Endotoxin aus gramnegativen Keimen"
Naturwissenschaften 53, 270/1966

192. URBASCHEK , B. , VERSTEYL , R. , GÖTTE , D.
"Zur Hemmung der Endotoxinwirkung an der Mikrozirkulation durch ein Glucofuranosid-Derivat"
Klin.Wschr. 45, 955/1967

193. WÖCKEL , W.
"Zur Infektion mit Pseudomonas aeruginosa"
Dtsch.med.Wschr. 92, 1876/1967

194. STACHOW , A. , JABLONSKA , S. , RZUCIDLO , L. , WYSZOMIRSKA , Z.
"Lipoprotein aus Endotoxin E.coli im Shwartzmanschen Phänomen"
Arch.klin.exp.Derm. 229, 304/1967

195. RZUCIDLO , L. , JABLONSKA , S. , STACHOW , A., WYSZOMIRSKA , Z.
"Die Lipoproteine der Zellreste der E.coli-Bakterien im Shwartzmanschen Phänomen"
Arch.klin.exp.Derm. 229 ,313/1967

196. WEDELL , J.
"Beeinflussung der Wundheilung durch Bakterienvaccine"
Arch.exp.Path.Pharmakol. 250, 289/1965

197. SCHULTE - HERMANN , R.
"Einfluß körperfremder Stoffe auf Enzyme des Arzneimittel - stoffwechsels und auf Wachstumsprozesse der Leber"
Med. Inauguraldissertation , Freie Universität Berlin 1968

198. OBERDISSE , E. , NEUBERT , D.
"Unterschiede in der Empfindlichkeit verschiedener RNS - Synthese-Reaktionen gegenüber Actinomycin C 1"
Arch.exp.Path.Pharmakol. 257, 318/1967

199. OBERDISSE , E.
"Pharmakologische Beeinflußbarkeit der Induktion von Fermenten im Pyrimidin-Stoffwechsel"
Arch.exp.Path.Pharmakol. 260, 182/1968

200. NEUBERT , D. , OBERDISSE , E. , BASS , R.
"Biosynthesis and degradation of mammalian mitochondrial DNA"
in "Biochemical aspects of the biogenesis of mitochondria"
Adriatica Editrice Bari 1968/S.103

201. OBERDISSE , E.
"Einfluß von Actinomycin auf die Induktion der Thymidin-Kinase nach alpha-Hexachlorcyclohexan"
Arch.exp.Path.Pharmakol. 263, 241/1969

202. OBERDISSE , E. , HOCHSTRATE , C. , MERKER, H.-J.
"Influence of drugs on induction of enzymes involved in DNA-metabolism"
V.Internat. Pharmakologenkongreß Basel 1969 (im Druck)

203. GÖING , H.
"Die Wirkungsweise von Pyrogenen und bakteriellen Endo - toxinen"
Klin.Wschr. 38, 1069/1960

204. GÖING , H.
"Toxikologie bakterieller Endotoxine"
Klin.Wschr. 40, 441 (1962)

D A N K S A G U N G

Auch an dieser Stelle möchte ich meinem Doktorvater , Herrn Prof.Dr. Diether N e u b e r t , ein aufrichtiges Wort des Dankes sagen , zum einen für sein Entgegen = kommen bei der Wahl des Dissertationsthemas , zum andern für die anregende Kritik , mit der er den Ver = lauf der Untersuchungen bisweilen korrigierte , und schließlich für das angenehme , von Nachsicht und Kollegialität geprägte Arbeitsklima .
Auch dem Institutsdirektor , Herrn Prof.Dr. Hans H e r k e n , bin ich für sein freundliches Interesse am Fortschreiten der Dissertation sehr zu Dank ver = pflichtet .

Herrn Prof.Dr. Hans-Joachim M e r k e r , Frl. Heidi K r ü g e r und Herrn Bernd Z i m m e r m a n n vom II. Anatomischen Institut der Freien Universität danke ich vielmals für die Herstellung und Beurteilung der elektronenmikroskopischen Bilder sowie für die Überlassung der Fibroblastenkulturen .

Die Sensibilisierungsversuche wurden in Zusammenarbeit mit der Universitätshautklinik im Rudolf-Virchow-Krankenhaus durchgeführt ; ich bin Herrn Oberarzt Prof.Dr. Franz K l a s c h k a (jetzt Klinikum Steglitz) sowie den Damen Elke B a u e r und Heinke K l e i n e für Beratung und tatkräftige Unterstützung außerordentlich dankbar .

Bei der Anfertigung der graphischen Darstellungen stand mir mein Bruder , Dipl.-Ing. Hans-Dietmar R u d o l p h , in dankenswerter Weise mit Rat und Tat zur Seite .

Schließlich möchte ich nicht versäumen , meinem ehe = maligen Institutskollegen , Herrn Ralf K r o w k e , nochmals herzlich zu danken ; seine kameradschaftliche Hilfe hat mir die Einarbeitung wesentlich erleichtert .

L E B E N S L A U F

Reimar Rüdiger R u d o l p h , geboren am 13. Juni 1943 in Berlin-Steglitz als zweiter Sohn des Fachstudienrates Hans-Georg R u d o l p h und seiner Ehefrau Ilse geb. P o h l .

Nach dem Besuch der Grundschule 1955 Übergang zur Robert - Blum-Schule in Berlin-Schöneberg ; Reifeprüfung auf dem neusprachlichen Zug dieses Gymnasiums im Frühjahr 1962 .

Im Wintersemester 1962/63 Beginn des Medizinstudiums an der Freien Universität ; dort Vorphysikum (SS 1963) und Physikum (WS 1964/65) .
Während des klinischen Studiums sieben Monate Famulatur (Innere Medizin , Pädiatrie , Dermatologie , Pathologie) in Berlin und Nyborg/Dänemark .
Ärztliche Prüfung an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität im Herbst 1968 , danach zwei Monate als Medizinalassistent an der II. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses am Kreuzberg . Anschließend acht - monatige Arbeit am Pharmakologischen Institut der FUB .

Seit Anfang 1969 Mitglied der F.D.P. ; im Rahmen der Partei Mitarbeit auf kultur- und hochschulpolitischem Sektor .

Zur Zeit als Medizinalassistent am Pathologischen Institut des Städt. Krankenhauses Neukölln tätig .

Angestrebtes Berufsziel ist der dermatologische Facharzt .

-.-.-.-.-.-.-